

Contribution à l'Étude du Mécanisme d'Action Biologique des Radiations Ionisantes

(Activité radiomimétique de l'ion ferreux chélaté)

Travail du Laboratoire de Chimie du Centre
de Recherches du Service de Santé des Armées.

THÈSE

Présentée

à la FACULTÉ MIXTE de MÉDECINE et de PHARMACIE
de LYON

et soutenue publiquement le 13 Juin 1961
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

Alain PAQUELIER

Né le 21 Novembre 1934

à RABAT (Maroc)



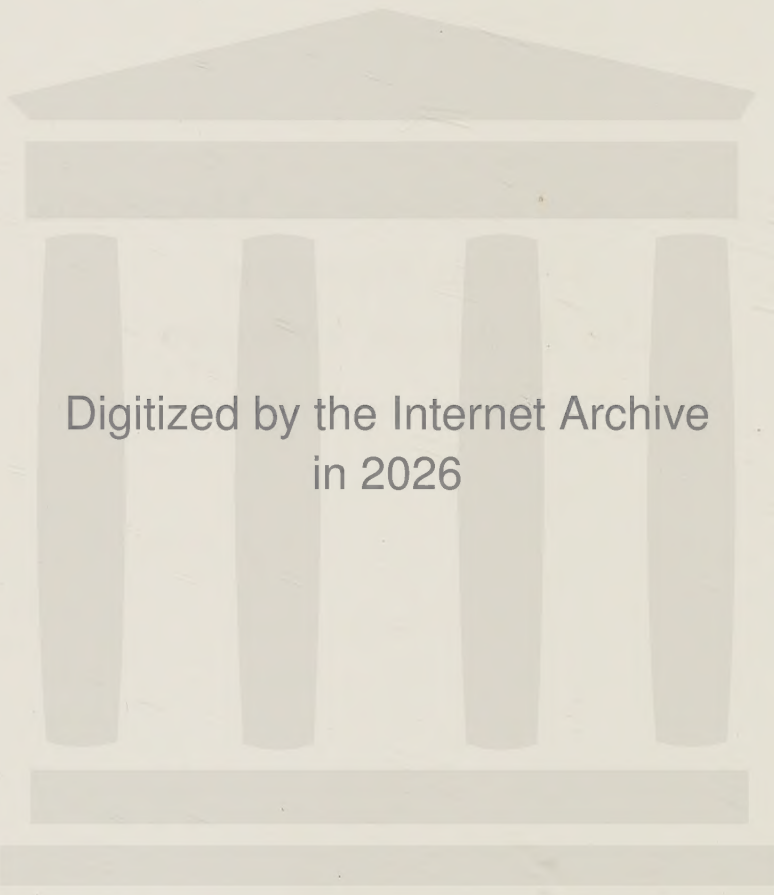
LYON

Imprimerie R. GAUTHIER
35, Rue Viala

1961

Contribution à l'Étude du Mécanisme
d'Action Biologique
des Radiations Ionisantes

(Activité radiomimétique de l'ion ferreux chélaté)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contribution à l'Étude du Mécanisme d'Action Biologique des Radiations Ionisantes

(Activité radiomimétique de l'ion ferreux chélaté)

Travail du Laboratoire de Chimie du Centre
de Recherches du Service de Santé des Armées.

THÈSE

Présentée

à la FACULTÉ MIXTE de MÉDECINE et de PHARMACIE
de LYON

et soutenue publiquement le 13 Juin 1961
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

Alain PAQUELIER

Né le 21 Novembre 1934

à RABAT (Maroc)



LYON

Imprimerie R. GAUTHIER
35, Rue Viala

1961

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen Honoraire M. J. LEPINE - Doyen M. H. HERMANN.
Correspondant de l'Institut

Assesseur M. M. LEVRAT.

Professeurs Honoraires : MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT,
MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

PROFESSEURS

Physiologie	MM. HERMANN.	Clinique médicale infantile et hygiène du 1 ^{er} âge	MM. BERNHEIM.
Clinique urologique	CIBERT.	Biologie médicale et pharmacodynamie	JOURDAN.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie	PONTHUS (dét. à Beyrouth).	Botanique et cryptogamie	NETIEN.
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale	DECHAUME.	Clinique chirurgicale C	BERTRAND.
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire	ROCHET.	Chimie analytique pharmaceutique	BADINAND.
Clinique des maladies infectieuses	JEUNE	Pharmacie chimique et pharmacologie	DREVON.
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON.	Médecine légale et déontologie	ROCHE.
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER.	Parasitologie et pathologie exotique	COUDERT.
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	GONIN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie	MOUNIER-KUHN.
Clinique médicale B	P. RAVAUULT.	Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE.
Clinique et prophylaxie cardiovasculaires	FROMENT.	Clinique dermatologique et syphiligraphique	THIERS.
Clinique médicale C	CROIZAT.	Clinique de pneumo-physiologie	BRUN.
Chimie biologique et médicale	ENSELME.	Clinique traumatologique des membres	CREYSSSEL J.
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY.	Cancérologie	DARGENT.
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile	UILLEMINET.	Anatomie pathologique	GUICHARD.
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL.	Pathologie générale et expérimentale	GIRARD P.
Clinique gynécologique	POLLOSSON.	Anatomie	LATARJET.
Clinique obstétricale	PIGEAUD.	Pathologie chirurgicale	PEYCELON.
Médecine du travail	BOURRET.	Thérapeutique	GIRARD M.
Clinique médicale	LEVRAT.	Pathologie médicale	VACHON.
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER.	Physio-pathologie des voies respiratoires	GALY.
Clinique stomatologique	DUCLOS.	Histologie	KEHL.
		Radiologie	PAPILLON.
		B actériologie	MONNET Paul

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine MM. BERGER.
Technologie Pharmaceutique DORCHE.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique	MM. BANSSILLON.	Physiologie	MM. CHATONNET.
Parasitologie	ROMAN.	Chimie organique et toxicologie	PERROT.
Bactériologie	BERTOYE A.	Pharmacie et Pharmacologie	CIER A.
Physiologie	CIER J.-F.		

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie pathologique	FERROLDI.	Hygiène	MM. THIVOLET J.
Chimie biologique et médicale	CREYSSSEL R.	Parasitologie	GARIN J.-P.
Anatomie	DUROUX.	Physique	MORET.
Thérapeutique	BRETTE.	Botanique et Cryptogamie	ODDOUX.
Histologie	DUMONT L.		

AGREGES EN EXERCICE

Neuro-chirurgie	MM. LECUIRE.	Oto-rhino-laryngologie	MM. GIGNOUX.
Obstétrique	MATHIEU J.	Stomatologie	FREIDEL.
Orthopédie	MARION Joseph.	Médecine générale	PLAUCHU.
Propédeutique médicale	PONT.	Pathologie médicale	DEVIC Michel.
Pathologie médicale	VIGNON.	Médecine légale	COLIN.
Pathologie chirurgicale	REVOL Louis.	Neurologie	GUYOTAT.
Médecine générale	JAUBERT	Obstétrique	DUMONT Martial.
Pathologie chirurgicale	de BEAUJEU.	Urologie	DURAND Louis.
Obstétrique	TRAAGER.	Chirurgie générale	FRANCILLON.
Pédiatrie et Puériculture	GUILLEMIN.	Médecine générale	DESPIERRES Ch.
Médecine générale	BURTHIAULT.	Chirurgie générale	de MOURGUES.
Pathologie chirurgicale	FRANÇOIS.	Chirurgie générale	SAUBIER.
Chirurgie générale	GUINET.	Dermatologie	COLOMB.
Chirurgie générale	SAUTOT.	Médecine du Travail	TOLOT.
Chirurgie générale	MARION Pierre.	Neurologie et Psychiatrie	SCHOTT.
	MICHAUD.	Ophtalmologie	BONAMOUR.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : Professeur BERGER

Assesseurs : Professeur PAPILLON, Professeur A. CIER, Professeur MOURIQUAND

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA FEMME

Avec tout mon amour.

A NOTRE FILLE ARIEL

A MES PARENTS

En faible témoignage de ma reconnaissance et de mon amour filial.

A MA FAMILLE

A MA BELLE-FAMILLE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERGER

Il nous a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de cette Thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expres-
sion de notre très respectueux remercie-
ment.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PAPILLON

Nous lui exprimons toute notre reconnaissance d'avoir accepté d'être l'un de nos juges.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. CIER

Notre première année en Faculté fut marquée par sa vitalité et sa forte personnalité.

Plus tard, il nous accueillit avec bienveillance dans son Laboratoire, malgré notre inexpérience.

Il a bien voulu nous confier le sujet de notre Thèse.

Nous l'en remercions bien vivement et comptons sur son indulgence.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude et de notre attachement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

Nous avons eu la chance de bénéficier de son enseignement.

Nous garderons de ses conseils amicaux et des services qu'il a bien voulu nous rendre, un souvenir reconnaissant.

Nous sommes sensible à l'honneur qu'il nous a fait en s'intéressant à ce travail et en acceptant de le juger.

A MONSIEUR LE PHARMACIEN-CAPITAINE NOFRE

En toutes circonstances il nous a dispensé son savoir.

Sa volonté, son expérience, son désir de nous rendre service ont contribué à modeler notre esprit et à enrichir nos connaissances.

Nous le remercions de nous avoir guidé dans la réalisation de notre travail avec compétence et souvent beaucoup de patience.

Nous sommes fier et reconnaissant qu'il ait bien voulu nous accorder son amitié.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL MAITRE

Il nous a prodigué de précieux conseils avec sa gratuité et son dévouement habituel.

Il n'a ménagé ni sa peine, ni son temps pour nous aider dans la réalisation de ce travail.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR DUTOU

Nous le remercions de l'intérêt qu'il a porté à nous-même et à notre travail.

Il nous a accueilli avec amabilité dans le service de Cobaltothérapie du Centre Léon Bérard. Ses conseils nous furent toujours profitables.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL BOURREL

Pendant une année passée dans son service, il nous a toujours manifesté une extrême bienveillance.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre profond respect et de notre gratitude.

A MESSIEURS LES MÉDECINS-ASSISTANTS

DU SERVICE DE RADIOLOGIE

A MONSIEUR LE MÉDECIN-GÉNÉRAL BORON

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

*Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL PROTAR

*Spécialiste des Hôpitaux Militaires
Médecin-chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A TOUS MES AMIS :

EN PARTICULIER MONSIEUR PELISSIER

et MESSIEURS LES DOCTEURS BECACHE, LOUISOT, REVOL

PLAN

INTRODUCTION.

I. — GENERALITES.

I. — 1. *Effets chimiques des radiations ionisantes.*

- A) Notions sur les radiations ionisantes.
- B) Structure de la matière.
- C) Interaction des radiations ionisantes avec la matière.
- D) Action des radiations sur les bioconstituants cellulaires.

I. — 2. *Mécanisme d'action biologique des radiations ionisantes.*

- A) Théorie de l'effet direct.
- B) Théorie de l'effet indirect.
- C) Validité des deux théories.

I. — 3. *Effets biologiques des radiations ionisantes,*

- A) Radiosensibilité cellulaire.
- B) Radiosensibilité tissulaire.
- C) Radiosensibilité de l'organisme entier.

I. — 4. *Modifications de la radiosensibilité.*

- A) Radiosensibilisation.
- B) Radioprotection.
- C) Radiomimétisme.

II. — TRAVAIL PERSONNEL.

II. — 1. *Protocole général.*

- A) Produits utilisés.
- B) Animaux d'expérience.
- C) Source de rayonnement.

II. — 2. *Résultats expérimentaux.*

- A) Toxicité générale aiguë.
- B) Pathologie générale.
- C) Effets hématologiques.
- D) Effets histologiques.
- E) Modification de la toxicité par la cystéinamine (MEA).
- F) Modification de la radiosensibilité par l'EDTA-Fe (II).

II. — 3. *Discussion des résultats.*

- A) Toxicité générale aiguë.
- B) Pathologie générale.
- C) Effets hématologiques.
- D) Effets histologiques.
- E) Modification de la toxicité par la MEA.
- F) Modification de la radiosensibilité.

CONCLUSION.

INTRODUCTION

Ce travail s'insère dans le cadre des recherches entreprises depuis plusieurs années au Laboratoire de Chimie du Centre de Recherches du Service de Santé sur des systèmes modèles hydroxylants, notamment le système d'UDENFRIEND — ion ferreux chélaté à l'éthylènediamine tétracétate sodique - ascorbate-oxygène moléculaire — le réactif de FENTON — ion ferreux-peroxyde d'hydrogène — et un FENTON modifié par chélation du fer, ce qui exalte son activité. Le mécanisme d'action de ces différents réactifs a pu être ramené à un même processus, la formation de radicaux libres hydroxyles, et des études *in vitro* démontrent qu'il y a une parenté certaine entre leurs effets et ceux provoqués par irradiation de substrats divers.

Les recherches qui nous ont été suggérées ont trait à l'action biologique, sur l'animal, de ces systèmes chimiques.

Nous nous sommes proposés de retrouver, *in vivo*, les analogies observées par ailleurs entre les effets de ces réactifs chimiques et ceux des radiations ionisantes ; c'est ce qui nous a amenés dans la première partie de ce travail à rappeler les notions essentielles concernant les rayonnements et leurs actions biologiques.

I. — GENERALITES

1. — 1. EFFETS CHIMIQUES DES RADIATIONS IONISANTES.

A) Notions sur les radiations ionisantes (5, 14, 42, 71).

On appelle radiations ionisantes les rayonnements qui ont une énergie suffisante pour entraîner l'arrachement d'un électron aux édifices atomiques ou moléculaires. On distingue les rayonnements corpusculaires et les rayonnements électromagnétiques.

a) *Les rayonnements corpusculaires.*

Ce sont des faisceaux de particules *chargées* électriquement — électrons (rayons β), protons, noyaux d'hélium (rayons α) — ou *non chargées* — neutrons — dont les caractéristiques énergétiques sont liées à l'énergie cinétique, c'est-à-dire à la masse et à la vitesse de ces particules.

b) *Les rayonnements électromagnétiques.*

Parmi ceux-ci, seuls les rayons X et γ sont considérés comme des radiations ionisantes. Les radiations électromagnétiques sont constituées de grains d'énergie (« photons ») dont la vitesse de déplacement dans le vide (C) est de l'ordre de 300.000 km./seconde. A tout photon est associée une onde de probabilité se traduisant par une fréquence ν (nombre de vibrations par seconde), et une longueur d'onde λ , avec la relation : $\lambda = \frac{c}{\nu}$.

On relie le caractère énergétique du photon à son aspect vibratoire par la relation de Planck $E = h\nu$, E étant l'énergie du photon (quantum), ν sa fréquence et h une constante dite constante universelle de Planck.

TABLEAU SYNTHÉTIQUE DES RAPPORTS ENTRE LA MASSE
ET LES DIFFÉRENTES FORMES D'ÉNERGIE*

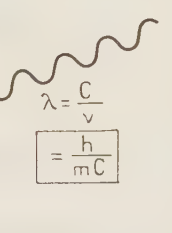
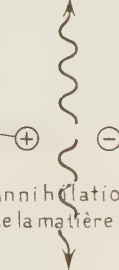
	ASPECT MASSIQUE	ÉNERGIE	ASPECT ONDULATOIRE
PHOTONS	Masse correspondant à l'énergie transportée $m = \frac{h\nu}{C^2}$	(Énergie quantique) $E = h\nu = mC^2$	 $\lambda = \frac{C}{\nu}$ $= \frac{h}{mC}$
MATIÈRE	Matérialisation $m_0 = \frac{\text{Energie de création}}{C^2}$	(Énergie potentielle) ou énergie de création $E_p = m_0 C^2$	 Annihilation de la matière
ÉNERGIE CINÉTIQUE	Accroissement de masse du à l'énergie cinétique $\Delta m = \frac{m_0}{\sqrt{1-\frac{v^2}{C^2}}} - m_0$	(Énergie cinétique) $E_c = \Delta m C^2$ $\neq \frac{1}{2} m v^2$ (Énergie totale) $E_t = \frac{m_0 C^2}{\sqrt{1-\frac{v^2}{C^2}}}$	 onde associée $\lambda = \frac{h}{mv}$

Fig. 1

ÉCHELLE LOGARITHMIQUE DES RADIATIONS ÉLECTROMAGNÉTIQUES

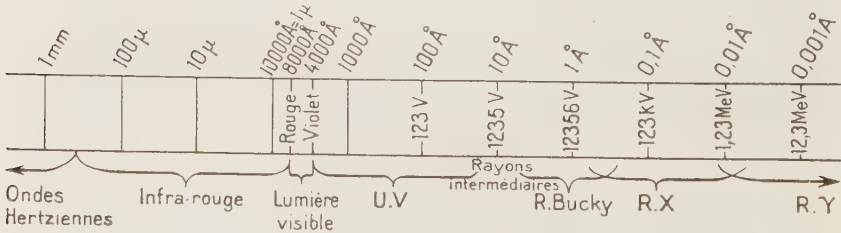


Fig. 2

* D'après Buchet (14), avec autorisation de l'auteur:

Les radiations les plus énergétiques sont celles de courte longueur d'onde ; leur place parmi les radiations électromagnétiques est schématisée dans la figure 2.

c) *Unicité des deux types de rayonnement.*

Si l'on tient compte de l'aspect massique et ondulatoire de l'énergie, ces deux types de radiations ionisantes présentent cependant des analogies mises en évidence dans la figure 1.

B) **Structure de la matière.**

Les interactions des radiations ionisantes avec la matière nous amènent à rappeler très sommairement sa structure.

La matière est constituée par un assemblage plus ou moins complexe d'*atomes* qui, en s'associant, forment des *molécules*.

a) *Les atomes.*

Ils sont constitués d'un noyau autour duquel gravitent des électrons. Le noyau est formé essentiellement de protons à charge électrique positive, et de neutrons dépourvus de charge. Autour du noyau, se trouvent les électrons, particules chargées négativement et de masse négligeable, leur nombre est égal à celui des protons, ce qui assure la neutralité électrique de l'atome.

Les électrons se répartissent autour du noyau par couche (K, L, M...) et sous-couches (s, p, d, f...). Sur chacune de celles-ci, la région de l'espace où la probabilité de présence d'un électron est maximale définit une « orbitale ». Sur une orbitale donnée, on peut associer à l'électron un niveau énergétique. Une orbitale est saturée par deux électrons. Ces deux électrons, s'ils existent, forment un couple d'électrons ou « doublet électronique » (atome d'hélium par exemple). L'orbitale est dite insaturée quand

elle ne contient qu'un seul électron, celui-ci est alors appelé « électron célibataire » (atome d'hydrogène par exemple). A côté de ce mouvement de révolution, les électrons présentent un moment de rotation sur eux-mêmes (spin). Si le sens de rotation des deux électrons considérés est opposé, on dit qu'ils ont des spins antiparallèles, ce qui se traduit par un moment magnétique de signe opposé. Seuls deux électrons de spins antiparallèles peuvent coexister sur une même orbitale. Si un atome a deux électrons célibataires comme l'atome d'oxygène, ces électrons ont des spins parallèles et sont situés sur des orbitales différentes.

b) *Les molécules.*

Elles proviennent de l'union de deux ou plusieurs atomes. Bien qu'il existe plusieurs types de liaison interatomique, nous nous limiterons au cas de la liaison *covalente*, qui résulte de l'appariement de deux électrons célibataires de spins antiparallèles appartenant à des atomes différents.

Ces deux électrons constituent alors un « doublet de valence » dont la probabilité de présence maximale dans l'espace définit l'orbitale moléculaire.

C) Interaction des radiations ionisantes avec la matière.

a) *Phénomènes électroniques.*

Quand un photon X ou γ est absorbé par les molécules constitutives de la matière, il cède partiellement ou totalement son énergie en provoquant deux types de phénomènes : l'excitation ou l'ionisation.

— L'excitation résulte du passage d'un électron appartenant à une certaine orbitale sur une autre orbitale d'énergie supérieure, à la suite d'un transfert d'énergie du photon à l'électron. L'atome (ou la molécule) est dans un état alors dit excité ; on représente symboliquement ce phénomène par un astérisque. L'électron délocalisé peut,

soit réintégrer son orbitale d'origine avec émission d'un photon — c'est l'effet de fluorescence —, soit entraîner au niveau des molécules une perturbation telle, qu'elle conduit à la scission homolytique de la liaison covalente.

Avec la molécule d'eau par exemple, formée par liaison covalente entre deux atomes d'hydrogène et un atome d'oxygène * et représenté symboliquement par :



le phénomène d'excitation conduira à la réaction :



La scission de la liaison covalente entraîne l'apparition dans le cas présent d'un *atome libre* d'hydrogène (H.) et d'un fragment moléculaire biatomique porteur d'un électron célibataire. Ce fragment est appelé *radical libre* hydroxyle **.

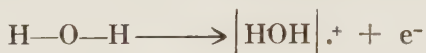
— L'ionisation se fait par éjection d'un électron hors de l'édifice moléculaire. Elle a lieu, soit à la suite de l'absorption totale d'un photon incident (effet photoélectrique et émission d'un photo-électron), soit par absorption partielle du photon incident quand celui-ci a une valeur élevée (effet Compton). Dans ce dernier cas il se produit un « choc élastique » entre le photon incident et l'électron, qui est alors expulsé (électron de recul); l'énergie qui n'a pas été absorbée se retrouve sous forme d'un photon d'énergie inférieure et dont la trajectoire est différente de celle du photon incident.

La molécule qui a ainsi perdu un électron est à la fois chargée positivement et contient un électron célibataire : c'est un *ion-radical*, qui se dissocie facilement.

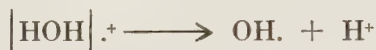
*Chaque atome d'hydrogène possède un électron célibataire ; et la couche électronique périphérique d'un atome d'oxygène contient six électrons, quatre sont appariés et deux célibataires.

** Un radical libre est, par définition, un fragment moléculaire polyatomique porteur d'un électron célibataire.

C'est ainsi que les rayons X ou α agissant sur l'eau peuvent l'ioniser suivant la réaction :

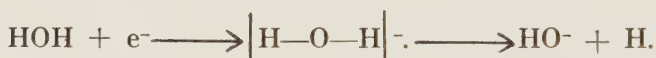


ion-radical positif qui se dissocie



L'électron expulsé peut à son tour, soit entraîner une « ionisation secondaire » en expulsant un autre électron après lui avoir cédé partiellement ou totalement son énergie cinétique, soit s'intégrer dans un autre système électronique*.

Avec la molécule d'eau par exemple, on peut avoir la réaction :



Le processus global de la « radiolyse de l'eau » se résume donc de la façon suivante :



Si l'on considère de même, une molécule organique que nous représenterons symboliquement par R—H, nous aurons la réaction globale :



b) *Phénomènes chimiques.*

La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres un moment magnétique permanent. On dit qu'ils sont « paramagnétiques ». Ce paramagnétisme permet d'une part d'expliquer leur extrême réactivité chimique, d'autre part de pouvoir les détecter par des moyens purement physiques.

* On appelle ionisation spécifique le nombre de paires d'ions créées par unité de longueur sur la trajectoire d'une particule chargée. Elle s'exprime habituellement en perte d'énergie par micron de trajectoire : c'est le Transfert d'Energie Linéaire (TEL).

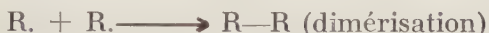
Le radical libre hydroxyle a une vie éphémère dans les conditions normales ; il conduira dans tous les cas à une structure stable par appariement de son électron célibataire. Deux possibilités lui sont offertes, soit contracter une liaison covalente, soit acquérir un électron.

— Formation de liaisons covalentes.

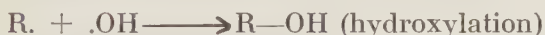
Deux radicaux libres hydroxyles peuvent s'unir entre eux suivant la réaction :



Plus généralement on peut avoir :



Avec un radical libre organique, le radical libre hydroxyle peut contracter aussi une liaison covalente :



Enfin lors de la radiolyse de l'eau, la plus grande probabilité reste encore la recombinaison des deux fragments, avec retour à la molécule initiale :



— Gain d'un électron.

Les radicaux libres, en particulier les radicaux libres hydroxyles, sont des « accepteurs d'électrons » autrement dit des agents d'oxydation. Ils auront tendance, au contact d'un donneur d'électron, à capter un de ceux-ci pour former des ions hydroxyles HO^- .

Par exemple avec l'ion ferreux nous aurons :

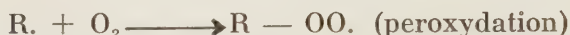


Par analogie tous les composés organiques contenant de l'hydrogène peuvent être oxydés par les radicaux libres hydroxyles suivant le processus global :



— Rôle de l'oxygène.

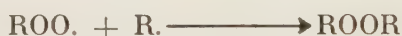
La plupart des systèmes biologiques, dont l'eau est toujours un composant majeur, contiennent cependant de l'oxygène moléculaire à l'état dissous. Celui-ci, avec ses deux électrons célibataires peut réagir avec un radical libre organique :



peroxyde qui peut à son tour entrer en réaction avec une autre molécule organique :



ou conduire à la formation d'un peroxyde disubstitué :

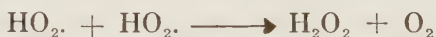


(diperoxydation)

L'oxygène peut également réagir avec l'atome libre d'hydrogène. Cette réaction conduit à l'apparition d'un *radical libre perhydroxyle* :



qui est moins réactif que le radical libre hydroxyle et dont les propriétés ne sont pas complètement élucidées. On admet qu'il peut donner du peroxyde d'hydrogène, soit par dimérisation :



soit en présence d'ions H^+ après capture d'un électron :



Le peroxyde d'hydrogène formé peut à son tour donner naissance à des radicaux libres hydroxyles, soit en réagissant avec l'atome libre hydrogène :



soit en arrachant un électron d'un corps réducteur :



On explique ainsi que la présence d'oxygène moléculaire accroisse le nombre des radicaux libres hydroxyles, qui se forment par radiolyse de l'eau.

On conçoit donc dès à présent l'importance de l'oxygène moléculaire dans tout milieu biologique, si on admet que l'effet des radiations ionisantes sur les organismes vivants est lié à la production de radicaux libres hydroxyles.

D) Action des radiations sur les bioconstituants cellulaires.

Des substrats cellulaires, nous n'envisagerons ici que le cas des glucides, des lipides et des protides.

— Les glucides.

Les radiations ionisantes provoquent une oxydation du groupement réducteur, des oses en solution aqueuse et le dégagement ultérieur d'anhydride carbonique (65, 66, 67).

L'action sur les polysides conduit à une rupture de la liaison osidique entraînant ainsi l'apparition de groupements réducteurs (12, 49).

— Les lipides.

Les constituants essentiels, aussi bien des lipides simples que complexes, sont les acides gras et les stérols. On a montré qu'au voisinage de leur groupement insaturé apparaissent, lors de l'irradiation, des fonctions peroxydes et hydroperoxydes (15, 43, 79).

— Les protides.

Les principaux effets observés sur les acides aminés sont des processus de désamination avec formation de cétoacides correspondants (désamination oxydative), et des

processus de décarboxylation avec genèse d'une fonction aldéhydique (50, 75). L'attaque des peptides et des protéines (1) est moins bien établie ; on peut penser toutefois que, dans le cas de peptides, seuls les groupements libres seront labiles, et que, dans celui des protéïdes, s'ajouteront les attaques au niveau des liaisons hydrogènes et la désorganisation consécutive de la structure caractéristique de ces macromolécules.

Dans le cas particulier des hétéroprotéïdes, il sera possible d'observer l'attaque des groupements organiques prosthétiques : produits de dépolymérisation des nucléoprotéïnes, les nucléotides puriques et pyrimidiques peuvent être détruits en solution aqueuse, sous l'effet des radiations ionisantes ; suivant l'importance de l'irradiation, on pourra déceler soit une simple coupure du nucléotide avec libération des fractions osidique et basique, soit une atteinte plus sévère de la molécule pouvant aboutir à une dégradation de la partie basique. Ce dernier processus peut être potentialisé par la présence d'oxygène et conduire à l'ouverture de l'hétérocycle pour les bases puriques ou à la formation d'hydroxyhydroperoxydes pour les bases pyrimidiques (20, 31, 44). En dépit de la valeur de ces recherches, l'extrapolation de ces résultats aux effets des radiations sur l'acide désoxyribonucléique (ADN) est hasardeuse par suite des liaisons internucléotidiques et des ponts hydrogènes entre les bases appariées. D'après BUTLER (16), le phénomène semble complexe ; aux perturbations de nature chimique, il se surajouterait des modifications de la structure cristalline et de la configuration hélicoïdale.

I. — 2. MECANISME D'ACTION BIOLOGIQUE DES RADIATIONS IONISANTES.

Il apparaît clairement maintenant que, dès l'irradiation des organismes vivants, il se produit des « lésions primaires » non directement observables, et qui pourtant seront à l'origine des lésions morphologiques et physiologiques décelables au bout d'un temps plus ou moins éloigné. Ces « lésions primaires » ne sont que des modifications apportées aux structures chimiques des édifices moléculaires complexes constituant des matériaux cellulaires. Il est classique de distinguer deux mécanismes par lesquels les radiations ionisantes provoquent de telles réactions. BACQ (5) les définit en ces termes :

— l'action directe : « la molécule qui subit une modification chimique est celle-là même qui a été ionisée ou excitée par le passage d'un électron ».

— l'action indirecte : « la molécule modifiée n'a pas absorbé l'énergie rayonnante mais la reçoit indirectement d'une autre molécule ».

A) Théorie de l'effet direct.

Seul le mécanisme d'action directe a été admis pendant la première moitié du siècle ; il a permis avec la « théorie de la cible », d'aborder l'étude quantitative des radiolésions (37, 39).

Si l'on tient compte de la structure granulaire de l'énergie transportée par les radiations ionisantes, on peut ramener les radiolésions aux effets produits sur une structure cellulaire par les chocs directs d'électrons accélérés

par l'absorption d'un quantum énergétique. Cette « structure » jouerait le rôle d'une véritable « cible », cible qui peut être détruite soit par un « coup unique », soit après avoir été atteinte par plusieurs projectiles : « théories des coups multiples ».

Lors d'une irradiation, la matière est le lieu d'une série d'impacts dont la répartition répond à la « loi du hasard » : la possibilité pour une cible de recevoir un projectile est la même que pour toutes les autres cibles. On introduit ainsi la notion de « coup efficace », c'est-à-dire le nombre de quanta nécessaire à la production d'une radiolésion.

La théorie des cibles reprise par LEA (54) repose sur les hypothèses suivantes :

— Quand un atome s'ionise, la molécule à laquelle il appartient subit une modification chimique.

— Parmi les altérations chimiques observées, le rôle des excitations peut être négligé.

Il a été montré expérimentalement qu'une cellule peut survivre à une irradiation sans aucune altération décelable malgré l'absorption de plusieurs quanta. Cette constatation a amené les auteurs à admettre qu'il existe à l'intérieur de la cellule un « volume sensible », plus petit que la cellule elle-même, et dont l'atteinte serait seule responsable de l'effet observé.

La preuve étant faite enfin qu'un transfert d'énergie est susceptible de se produire dans un substrat biologique, on peut concevoir que la lésion biochimique engendrée par la radiation ne se produit pas obligatoirement à l'endroit même où l'énergie a été absorbée. Ainsi sur la base de ces hypothèses induites des résultats expérimentaux, un calcul mathématique permet de tracer de façon théorique une courbe de survie en fonction de la dose (courbe exponentielle en cas de coup unique, sigmoïde en cas de coup multiple).

Dans un assez grand nombre de cas, les courbes expérimentales confirment la théorie.

D'autre part, cette même analyse mathématique permet d'obtenir une valeur du « volume sensible ». Pour un matériel biologique simple, par exemple un petit virus ou un système enzymatique, les valeurs théoriques correspondent effectivement aux dimensions calculées expérimentalement.

B) Théorie de l'effet indirect.

Si l'on se rappelle l'importance de l'eau dans tout substrat biologique, on comprend pourquoi certains auteurs rapportent le mécanisme d'action des radiations ionisantes sur la matière vivante aux radicaux libres produits lors de la radiolyse de l'eau (cf. ch. I-1-C). Les conditions nécessaires à leur genèse, à leur diffusion et à leur action peuvent alors expliquer quatre groupes de faits confirmés expérimentalement et venant à l'appui de la théorie du mécanisme d'action indirecte.

a) Test de dilution.

Pour une « dose » donnée, le nombre de radicaux libres est constant et par suite le nombre de molécules du substrat qui sont atteintes dans un certain volume ne dépend pas de la concentration ; on peut traduire cette proposition sous une autre forme en disant que le « pourcentage d'irradiation » varie en sens inverse de la concentration (22).

b) Test de protection.

La congélation empêche une libre diffusion des radicaux libres dans le milieu ambiant ; on devait donc s'attendre à une diminution de la radiosensibilité aux basses températures. Cette hypothèse a été confirmée par l'expérience*.

*Nous envisagerons le phénomène de protection chimique dans le chapitre 1-4 - B.

c) *Effet oxygène.*

Nous avons vu (chapitre I-1-C) que la présence de l'oxygène favorisait la genèse des radicaux libres. En effet, il a été constaté que l'action biologique des radiations ionisantes est en rapport direct avec la tension en oxygène dissous du milieu irradié.

d) *Test de l'hydratation.*

L'étude de la radiosensibilité comparée d'un système biologique en présence ou en absence d'eau prouve que l'eau intervient de façon primordiale dans le mécanisme intime des radiolésions. HUTCHINSON et Col. (46) signalent notamment qu'en enlevant des petites quantités d'eau (eau liée) à des cellules de levure apparemment sèches, on modifie de façon significative la radiosensibilité des systèmes enzymatiques spécifiques.

C) Validité des deux théories.

Aucune des deux théories précédentes ne peut expliquer à elle seule toutes les radiolésions. En effet, les calculs mathématiques de la théorie de la cible (ou des cibles) peuvent tout aussi bien s'appliquer si l'on remplace l'électron projectile classique par un radical libre, créé lors de la radiolyse de l'eau.

Dans de nombreuses expériences tendant à prouver le mécanisme direct des radiations, les auteurs ont employé, dans la mesure du possible, un matériel expérimental pur et exempt d'eau (par séchage ou congélation), tels que des enzymes purifiés et des virus. Mais il est très difficile d'enlever toute l'eau d'un substrat biologique, en particulier l'eau liée, et la radiosensibilité résiduelle d'une substance apparemment déshydratée de façon totale par les procédés classiques, ne doit pas être obligatoirement rapportée à un mécanisme d'action directe.

Dans la trypsine cristallisée elle-même, dont l'inactivation sous l'effet d'un rayonnement paraît pouvoir être attribuée à un mécanisme direct, on retrouve encore 4 à 6 p. 100 d'eau.

GINOZA et Col. (36) signalent aussi la possibilité d'une d'action des radiations ionisantes paraît devoir être invoqué. Ils remarquent en effet que l'addition de glutathion à une préparation de virus, avant séchage ou congélation, entraîne une radioprotection. Si l'on tient compte d'autre part de la possibilité du phénomène des transferts de l'énergie intra et extramoléculaire, le « protecteur chimique » pourra intervenir aussi au cours de ce transfert, et le test de protection chimique perd ainsi de sa validité en tant qu'argument appuyant la théorie indirecte.

Depuis quelques années, on tend à considérer le mécanisme d'action des radiations ionisantes sous l'angle biochimique et l'on peut estimer avec SCHOLLES et WEISS qu'il ne doit pas exister de différences fondamentales entre les effets « directs » et « indirects » des rayonnements (72).

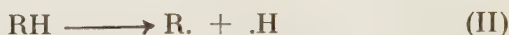
Si l'on désigne par RH une substance organique dont une modification est susceptible d'entraîner un processus lésionnel de l'élément cellulaire auquel elle appartient, un radical R. peut être formé suivant la réaction :



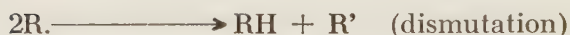
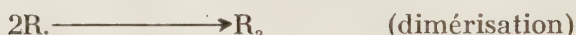
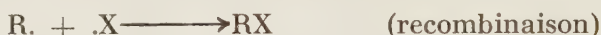
par interaction entre RH et un radical $\cdot\text{OH}$, celui-ci étant produit par la radiolyse de l'eau suivant le processus global :



Mais ce même radical R. peut être engendré par un effet direct des radiations sur RH, suivant le processus chimique primaire que l'on peut traduire par la réaction globale :



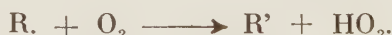
En absence d'oxygène, les radicaux libres organiques R. peuvent réagir suivant les réactions :



Le radical libre .R peut en présence d'oxygène donner un nouveau radical RO₂ suivant l'équation :



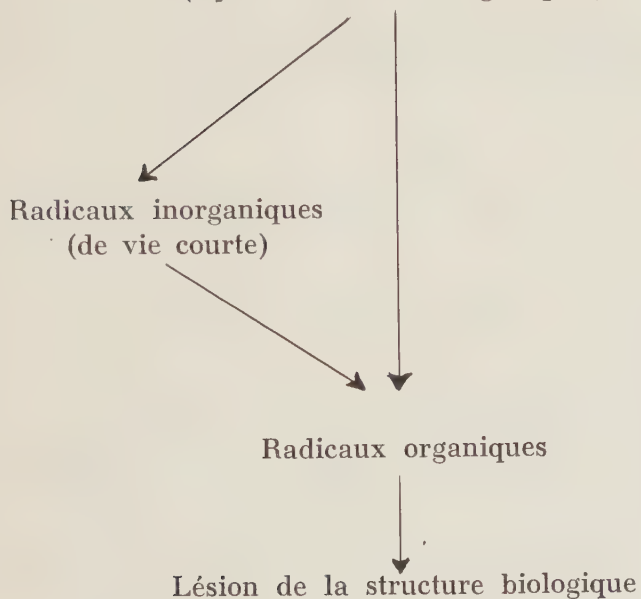
à l'origine de peroxydes organiques fortement oxydants. Ce même radical R. peut également aboutir à la formation d'un autre corps R' suivant l'équation :



Le résultat global est dans tous les cas une modification de la structure chimique ; « il est bien établi, par conséquent, que les différences entre les effets directs (réaction II) et indirects (réaction I) ne pourront être qu'essentiellement de nature quantitative » (72), tous les radicaux .OH formés ne participant pas à la réaction I. C'est ainsi qu'adoptant un tel processus nous sommes en mesure de schématiser le mécanisme d'action des radiations ionisantes de la façon suivante :

Perturbation à l'échelle moléculaire

(H₂O et molécules organiques).



I. — 3. EFFETS BIOLOGIQUES DES RADIATIONS IONISANTES

A) Radiosensibilité cellulaire.

a) *Radiosensibilité de la cellule en Interphase.*

La cellule peut être considérée comme une unité biologique de structure organisée. C'est sous cet angle que nous devons envisager sa radiosensibilité.

Le noyau, à qui on a pu attribuer un rôle primordial dans la sensibilité cellulaire aux radiations, semble présenter toutefois, durant l'interphase, une radiorésistance relative. Aux fortes doses d'irradiation, il peut apparaître suivant le type de cellule envisagé, soit une modification structurale avec homogénéisation, gonflement, perte des affinités tinctoriales et désagrégation (nécrose de coagulation), soit un processus de rétraction, avec hypercolorabilité, suivi d'un éclatement et d'une dispersion des fragments nucléaires dans le cytoplasme (pycnose). On peut constater en outre des variations morphologiques des nucléoles avec allongements, torsions, saillies anguleuses, ou vacuolisations, et un accroissement des affinités pour les colorants basophiles, que l'on rapporte à une augmentation des acides ribonucléiques. Morphologiquement deux types de lésions cytoplasmiques peuvent être mises en évidence : une destruction rapide mais transitoire des mitochondries et une perturbation au niveau de la membrane cellulaire, qui conduisent respectivement à une dégénérescence vacuolaire et à un trouble de la perméabilité (32).

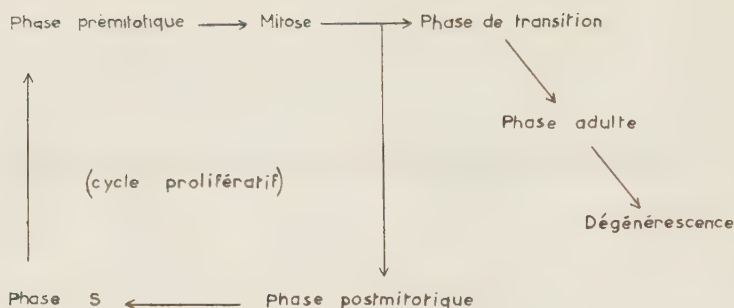


fig. 3 Phase de prolifération et de renouvellement cellulaire, d'après QUASTLER.

b) *Radiosensibilité de la cellule en phase de prolifération.*

Phase apparente de prolifération (fig. 3), la mitose est perturbée par l'irradiation. Les effets engendrés à ce stade de la vie cellulaire sont parmi les plus étudiés ; ils ne sont pas simples, pas plus que ne l'est la mitose. SWANN (76) énumère, en une liste qui n'est certainement pas limitative, quelques conditions nécessaires au déclenchement de la mitose :

- maturité minimale,
- réserve énergétique suffisante,
- cycle « SH » en un état approprié,
- clivage du matériel chromosomique,
- acide ribonucléique (ARN) nucléaire en quantité suffisante,
- centrosome dédoublé.

Multiples, imbriqués, les effets des radiations ionisantes sur la mitose sont très difficiles à sérier. Cependant QUASTLER (69) admet qu'il est possible de distinguer parmi les plus caractéristiques les points suivants :

- « viscosité » des chromosomes (stickiness),
- retard de la mitose,

- rupture des chromosomes, ponts chromosomiques et nouvelles fragmentations,
- mitoses multipolaires,
- anomalie de position des gènes après la mitose,
- arrêt du développement cellulaire pendant ou après la mitose,
- division chromosomique sans division cellulaire,
- division nucléaire sans division cellulaire,
- division cellulaire suivie d'une fusion des cellules filles.

Cependant, comme le dit QUASTLER (69), la mitose ne paraît pas être la seule phase critique dans la prolifération cellulaire. Au cours de ces dernières années, on a pu identifier une « phase S » au cours de laquelle la cellule synthétise un nouveau matériel chromosomique. Dans la plupart des types cellulaires, il existe des intervalles bien définis entre la fin de la phase S et le début de la mitose, et entre la fin de la mitose et le début de cette phase (fig. 3). L'irradiation touche également la synthèse de l'ADN (48), élément fondamental des chromosomes, supports des gènes vecteurs des caractères héréditaires. Il est bien connu que les radiations ionisantes peuvent être responsables de mutations.

En dépit de son grand intérêt, nous ne faisons qu'évoquer ici le problème des radiomutations car nous n'avons pas envisagé l'aspect génétique des systèmes qui font l'objet de notre travail expérimental.

Ainsi, nous n'avons abordé volontairement que quelques aspects généraux de la radiosensibilité cellulaire. Bien qu'une systématisation puisse apparaître incomplète et peut être artificielle, on peut toutefois, d'après GRAY (38), schématiser cette réponse de la façon suivante (fig. 4).

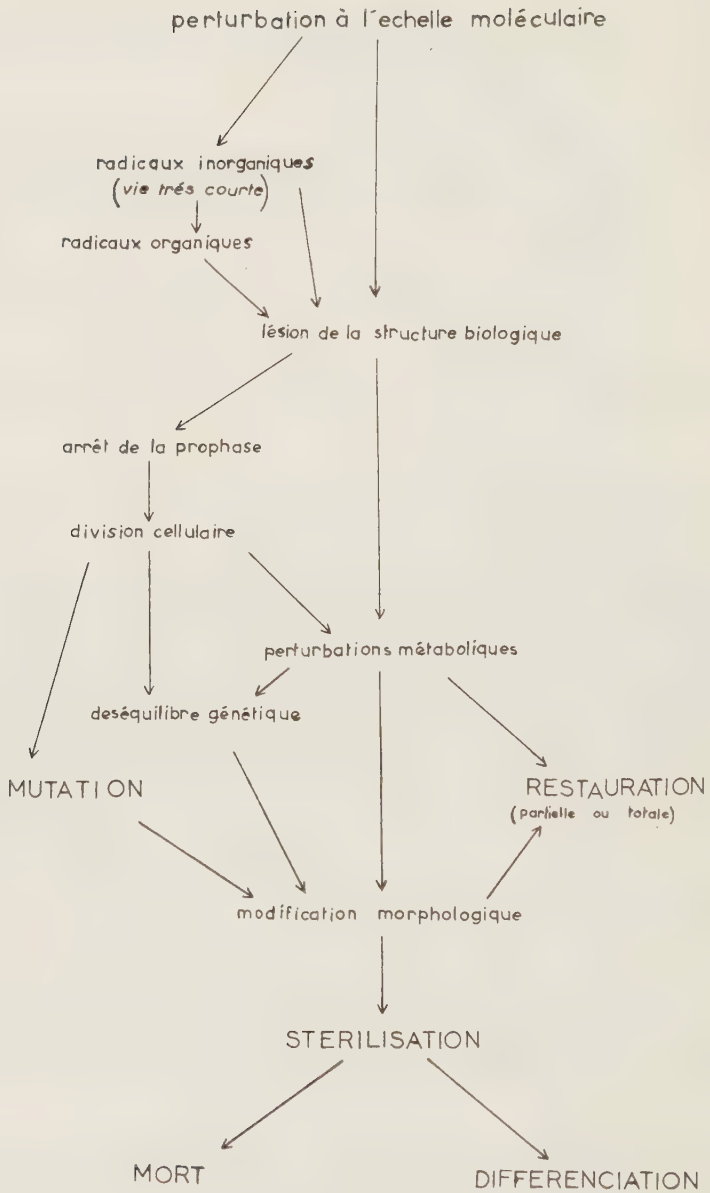


fig. 4. Etapes dans le développement de la radiolésion biologique

B) Radiosensibilité tissulaire.

a) Généralités.

Le tissu n'est qu'une mosaïque tridimensionnelle de cellules d'âge et d'état fonctionnel différents. De nombreuses populations cellulaires sont dans un état de « stabilité équilibrée » maintenu comme tel par les processus de formation, maturation et dégénérescence cellulaire (55).

Les tissus radiosensibles rentrent aussi dans ce cadre, notamment la moelle osseuse, l'épithélium intestinal. Leur réponse à l'irradiation présente des caractères communs bien mis en évidence lors de l'irradiation duodénale (68). Trois phases peuvent être distinguées dans cette réaction. Tout d'abord, l'irradiation interfère avec *la production de nouvelles cellules* sans intervenir sur la maturation ou la dégénérescence ; si l'atteinte des cellules germinatives est transitoire la lésion est réversible et il y aura rapidement formation de nouvelles cellules jusqu'à ce que le tissu ait repris son équilibre initial. La seconde phase *touche les cellules adultes* ; en absence de restauration, le processus normal de dégénérescence est perturbé et la population cellulaire est considérablement amoindrie.

La troisième phase est constituée par *les conséquences* sur tout l'organisme de la détérioration du tissu irradié. Ces trois phases — interférence avec la production cellulaire, modification des cinétiques cellulaires normales en absence de reproduction, et effets de la déplétion cellulaire sur l'organisme entier — peuvent être retrouvées dans différents types de radioréactions touchant des systèmes cellulaires en état d'équilibre stable, comme le sont les tissus radiosensibles.

En fait, il n'est pas de structures ou de fonctions biologiques qui ne puissent être touchées par les radiations ionisantes, mais les doses nécessaires pour produire des effets observables sont extrêmement variables.

« Les rayons X agissent avec d'autant plus d'intensité sur les cellules que l'activité reproductrice de ces cellules est plus grande, que leur devenir karyokinétique est plus long, que leur morphologie et leurs fonctions sont moins définitivement fixées. » Ces critères, proposés dès 1909 par BERGONIE et TRIBONDEAUX (9), sont encore valables, bien que certaines exceptions obligent à apporter quelques restrictions à la relation : prolifération cellulaire/radiosensibilité. Aussi, peut-on dire avec QUASTLER (69) que la plupart des systèmes cellulaires radiosensibles (mais pas *tous*) sont prolifères, et, que la plupart des systèmes cellulaires prolifères (mais pas *tous*) sont radiosensibles, comme le montre le tableau 1.

TISSUS	PROLIFERATION CELLULAIRE(P)	RADIOSENSIBILITE TISSULAIRE(R)	RELATION P-R (+) vérifiée (0) nulle ou douteuse
Epithélium intestinal	+++	+++	+
Système pileux	+++	+++	+
Lignées sanguines (avant irradiation)	+++	+++	+
Tissus tumoraux	+++	variable de +++ à -	+ et 0
Lignées sanguines (après irradiation)	+++	±	0
Muqueuse respiratoire	+	±	0
S R E	+++	+	0
Revêtement cutané	++	±	0
Tissu rénal	+	++	0
Tissu hépatique	+	++	0
Lymphocytes	0	+++	0(nulle),

Tab. 1. Rapport entre la Prolifération cellulaire et la Radiosensibilité.

Ayant limité notre travail expérimental à l'étude de la sensibilité du tractus intestinal au fer ferreux chélaté, et à la répercussion de ses effets au niveau du sang périphérique, nous n'envisagerons dans le cadre de la radiosensibilité que les organes sangui-formateurs et l'épithélium intestinal.

b) *Lésions des organes sangui-formateurs* (10, 21, 27, 47, 51).

La radiosensibilité des cellules sanguines présentes dans le sang périphérique contraste avec celle des organes sangui-formateurs (fig. 5).

Les cellules du sang périphérique ne seraient que peu ou pas atteintes par une quantité de rayonnement inférieure à la dose sublétales, exception faite peut-être pour les lymphocytes ; il est de toute évidence que les perturbations de l'hémogramme résultent des lésions des cellules souches au niveau des organes hématopoïétiques (fig. 6).

— *Tissu réticulohistiocytaire.*

Les travaux de JACOBSON et Col. (47) ont montré l'extrême radiorésistance des cellules réticuloendothéliales. En effet, la structure, le pouvoir de multiplication et les fonctions macrophagiques des cellules qui composent ce tissu, ne sont pas altérés par les radiations.

— *Tissu lymphoïde.*

On peut le classer parmi les tissus les plus radiosensibles. C'est ainsi qu'au niveau des « centres germinatifs » on constate des destructions extrêmement précoces, responsables, au niveau du sang circulant, d'une lymphopénie dans les heures qui suivent l'exposition au rayonnement. L'image histologique, quelques heures après irradiation, nous montre une zone centrale claire, traduisant une mortalité quasi totale des cellules jeunes de la lignée lymphoïde, qui contraste avec une zone périphérique où

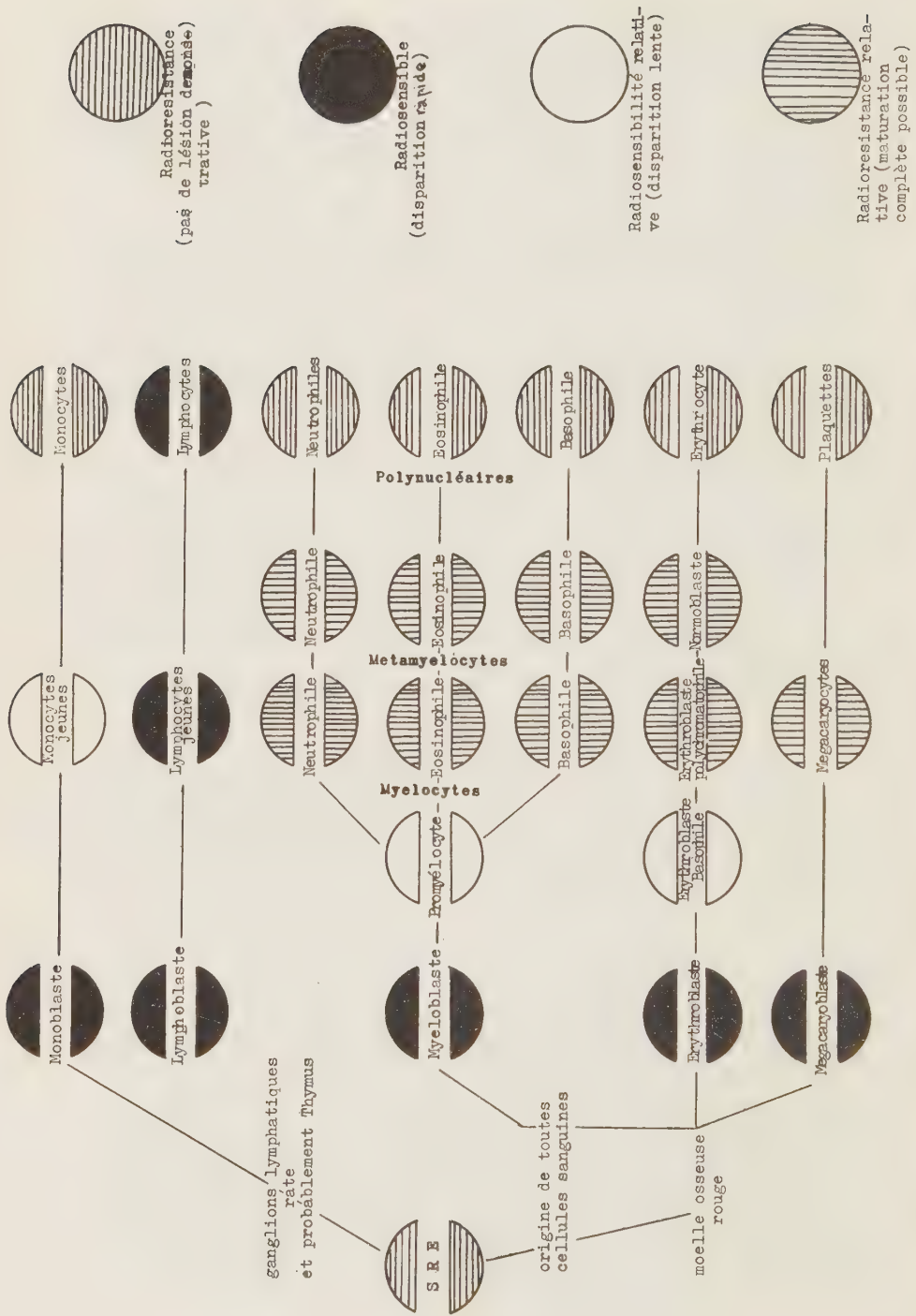


FIG. 5. Diagramme représentatif de la radiosensibilité des cellules sanguines et de leurs précurseurs, d'après CRONKITE (34)

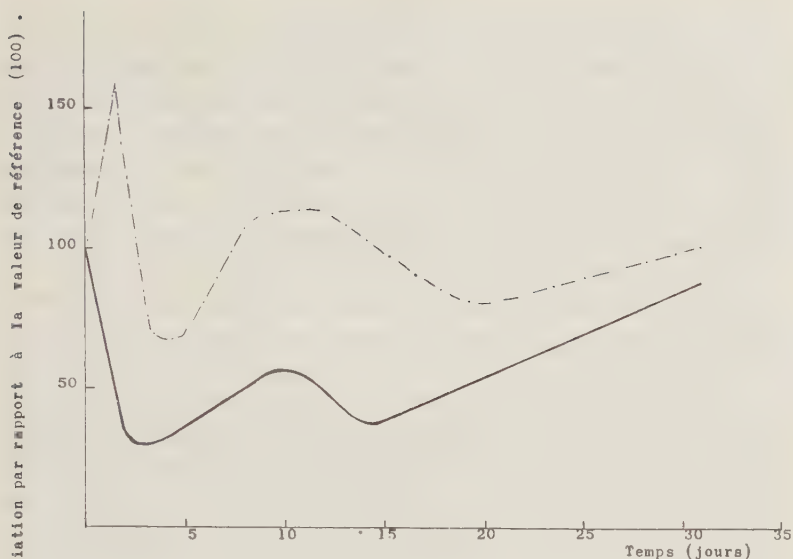


Fig. 6 VARIATIONS DES LYMPHOCYTES (—) ET DES POLYNUCLÉAIRES (---) sous l'influence des Radiations Ionisantes à dose Sublétale.

peuvent persister quelques éléments adultes. Le processus est réversible à longue échéance aux doses faibles d'irradiation.

— Tissu granulocytaire.

Il est également très sensible et disparaît en quelques jours ; mais son pouvoir de régénération étant supérieur à celui du tissu lymphoïde, la régression des lésions se fait en une quinzaine de jours.

— Tissu érythrocytaire.

L'analogie d'origine et de localisation avec le tissu granulocytaire explique que leur radiosensibilité soit parfaitement superposable, et que le dépeuplement et la régénération de la moelle se fassent en un seul temps.

— Tissu Mégacaryocytaire.

Sa localisation est à la fois médulaire et splénique. Les mégacaryocytes paraissent assez sensibles aux radiations ; leur grande taille pourrait expliquer leur plus lente disparition.

c) *Lésions du Tractus Digestif* (10, 27, 51, 57).

Les lésions que l'on observe après irradiation du tractus digestif résultent d'un arrêt des mitoses au niveau des couches basales des épithéliums. La majorité des débris intra-cryptiques proviennent d'une nécrose des cellules lymphoïdes des couches sous-jacentes, et ils sont apparemment excrétés à travers la barrière épithéliale.

Le blocage des mitoses a pour conséquence un arrêt de la croissance de l'épithélium digestif.

C'est ainsi qu'au niveau de l'œsophage les cellules basales deviennent squameuses, acanthosiques et se kératinisent; les couches superficielles se desquament et la surface épithéliale devient progressivement atrophique. Des « radioœsophagites ulcéraives » surviennent alors si l'activité mitotique ne reprend pas dans un bref délai. De même au niveau du tractus intestinal, surtout du duodénum particulièrement radiosensible, la zone germinative (glandes de Lieberkühn) présente au bout de quelques heures des lésions pycnonécrotiques; on observe aussi des processus de métaplasie squameuse, de vacuolisation et de surcharge graisseuse. Des ulcérations ont été parfois décrites, elles résultent d'un traumatisme engendré par le bol fécal ou d'une sclérose vasculaire.

Aux fortes doses (entre 1.000 et 10.000 r), l'animal irradié meurt en trois à quatre jours, laissant une muqueuse intestinale lésée, l'épithélium des villosités, détaché par plaques et leur stroma (axe) rétracté, se laisse envahir par les phagocytes. Ce type de lésion peut également être provoqué par une irradiation de l'intestin isolé, le reste de l'organisme étant protégé par des écrans.

C) Radiosensibilité de l'organisme entier.

Cette étude est limitée ici au cas particulier de la souris. Le critère habituel de radiosensibilité des organismes entiers est la dose létale 50 au trentième jour

(DL 50/30), c'est-à-dire la dose qui tue 50 p. 100 des animaux avant le trentième jour (11, 74). Ce mode de représentation de la radiosensibilité n'est que le reflet de manifestations souvent occultes ; il est bien connu, néanmoins, qu'il existe, au cours des trente jours qui suivent l'irradiation, de profonds bouleversements biochimiques, physiologiques et même morphologiques, réactions responsables finalement de perturbations fonctionnelles profondes provoquant la mort de l'organisme irradié (74). Peu de temps après l'exposition au rayonnement, s'observent déjà des atteintes organiques et il est classique de distinguer entre autres les manifestations mitotiques, l'inactivation enzymatique, les lésions des acides nucléiques, l'accroissement de la consommation d'oxygène, une modification de la perméabilité cellulaire, un dysfonctionnement aigu de tout le système hématopoïétique, un trouble de l'absorption intestinale, une variation de pH sanguin et de la viscosité plasmatique, une chute de la pression artérielle, une augmentation de l'acidité gastrique, des pertes électrolytiques...

Toutes ces lésions surviennent presque simultanément, ce qui entraîne des troubles plus ou moins graves dont les répercussions sur l'organisme entier dépendront de la dose reçue, du type de rayonnement utilisé (EBR) *, de son mode d'administration (dose unique ou fractionnée), et, dans une espèce animale donnée, de la souche utilisée. Malheureusement, il n'a pu être précisé encore avec certitude quelle est la perturbation dont le rôle est déterminant pour l'évolution ultérieure. Il n'est pas exclu que chacune des lésions organiques ne soit à elle seule essentielle.

Les trois principaux facteurs susceptibles de jouer un rôle primordial dans le processus mortel sont les lésions intestinales, médullaires et l'infection bactérienne qui résulte de ces deux premières atteintes ; entraînant

*EBR (Efficacité Biologique Relative) : rapport de l'efficacité des radiations à haute densité ionique à l'efficacité des radiations à faible densité ionique. La EBR dépend de l'ionisation spécifique.

des pertes en eau et en électrolytes, les lésions intestinales permettent aussi le passage des bactéries à travers la barrière intestinale, les lésions médullaires responsables de séquelles pancytopéniques sont à l'origine d'hémorragies et favorisent également l'infection (8, 58). Cette complexité expliquerait que la répartition des cas mortels parmi les animaux irradiés n'est pas régulière et présente des maxima ou « pics de mortalité ». On a même avancé que chaque pic apparaîtrait comme la représentation de causes différentes ayant déterminé la mort des animaux.

Pour de fortes irradiations, il se produit un syndrome hyperaigu qui dépend de l'exposition du cerveau. La mort survient dans un tableau de dysfonctionnement cérébral, traduction de lésions du tissu nerveux (53).

Quand la dose est plus faible, le temps de survie est accru. Après une irradiation totale aux rayons X ou γ , l'évolution semble dominée chez la souris par la « mort médullaire » et la « mort intestinale » (4) ; chacun de ces deux types correspond à un temps de survie qui est invariable (ou presque) avec la dose ; il peut varier cependant avec l'espèce, le sexe, et les conditions générales d'expérience. Cette bimodalité se retrouve dans l'aspect général des courbes de poids (52), avec une première chute pondérale durant les premiers jours qui s'estompe vers le septième, et un nouvel amaigrissement dont le maximum est au douzième jour. Par la suite, l'animal, s'il survit, récupère son poids initial.

La « mort intestinale » survient entre le troisième et le cinquième jour après l'irradiation et la « mort médullaire » entre le neuvième et le quinzième jour. Quelques souris peuvent mourir cependant entre ces deux phases aiguës. Deux explications en ont été proposées :

— Les temps de survie sont distribués autour des deux valeurs moyennes avec une dispersion considérable telle qu'une mortalité survenant au sixième jour peut

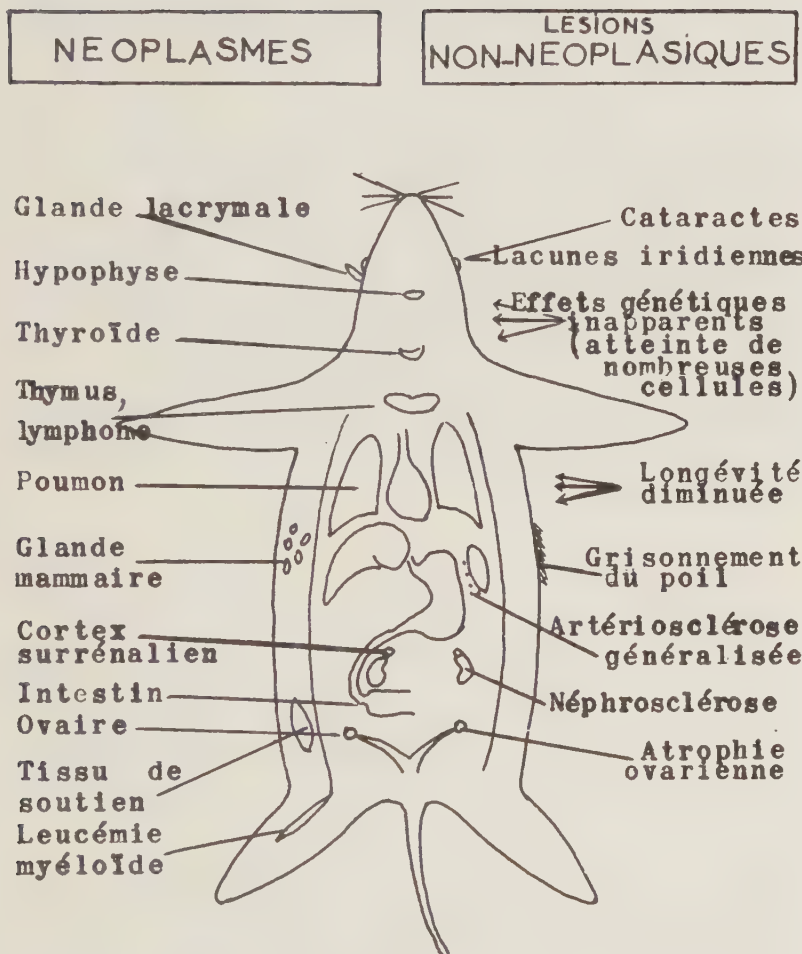


Fig.7. Modifications néoplasiques et non-néoplasiques tardives après irradiation totale chez la souris, d'après FURTH (34).

résulter soit d'une « mort intestinale » tardive, soit d'une « mort médullaire » précoce.

— Il existerait un troisième type de mort (« oral syndrome ») (4) ; correspondant à un temps de survie variable avec la dose, il surviendrait entre le quatrième et le neuvième jour.

Après le quinzième jour et jusqu'au trentième jour, période subaiguë, se produisent des cas individuels de létalité dont la cause reste encore obscure.

Si l'animal ne succombe pas dans les trente jours qui suivent son irradiation, en raison des altérations décrites plus haut que l'on peut considérer comme précoces, et même s'il a recouvré un état de bonne santé apparente, l'animal conserve la trace indélébile de son irradiation. Les manifestations morbides tardives que l'on peut voir apparaître ultérieurement sont schématisées dans la figure 7.

I. — 4. MODIFICATIONS DE LA RADIOSENSIBILITE.

Ce problème présente un triple intérêt :

- en thérapeutique, par l'augmentation (ou la potentialisation) des effets des radiations, surtout si l'on peut un jour obtenir une sensibilisation localisée,
- en cas de contamination radioactive provoquée ou accidentelle, avec l'administration préventive ou curative de radioprotecteurs,
- sous l'angle théorique enfin, pour l'étude du mécanisme d'action des radiations ionisantes.

A) Radiosensibilisation.

BANE, en 1957, définissait les « radiosensibilisants » comme des substances capables d'entraîner une susceptibilité accrue des tissus aux radiations ionisantes, alors que seuls ils ne provoquent aucun effet comparable (7). Cette définition exclut donc de ce groupe les « radio-mimétiques »*.

a) *Effet oxygène.*

Nous avons vu que la présence d'oxygène est d'une importance majeure (chapitre I-1 -C). Toute modification de la radiosensibilité d'un substrat biologique, par la présence ou l'absence d'oxygène, est en faveur de la « théorie chimique » du mécanisme d'action des radiations ionisantes.

*Cette question a fait l'objet d'une mise au point récente malheureusement inédite (M.-C. DREVON, 1959, Travail du Laboratoire de Pharmacie Chimique et Pharmacologie).

La comparaison des effets observés après action de différents types de rayonnements nous conduit à admettre que l'oxygène intervient surtout lorsque l'irradiation est réalisée avec un rayonnement électromagnétique.

En biologie cellulaire, le problème de l'effet oxygène peut être étudié en comparant les effets des radiations sur des milieux dont on fait varier la tension partielle en oxygène. Lorsqu'une suspension suffisamment diluée de bactéries (*Shigella flexneri*) est vigoureusement agitée pendant la période d'irradiation avec un mélange contenant de l'oxygène à des pourcentages différents, la relation entre la radiosensibilité (S) et la concentration en oxygène (O₂) peut s'exprimer, d'après ALPER et HOWARD FLANDERS (2), selon l'équation :

$$\frac{S - S_N}{S_N} = (m - 1) \frac{|O_2|}{|O_2| + K}$$

K et m sont des constantes et S_N exprime la sensibilité dans des conditions d'anaérobiose. La constante m dépend du type de rayonnement ; K représente la concentration en oxygène pour laquelle la sensibilité bactérienne se trouve exactement à « mi-chemin » entre celle mesurée en anaérobiose et celle en aérobiose maximum. Aux erreurs d'expérience près, les valeurs de ces deux constantes sont les mêmes pour les bactéries, les cellules tumorales et diverses cellules végétales.

Sur un système cellulaire complexe, l'étude quantitative de l'effet oxygène est plus difficile. Chez les mammifères, de nombreux résultats confirment cependant que l'effet oxygène est une règle générale en radiologie. De tels résultats ont été obtenus par modification de la pression partielle en oxygène au niveau des tissus en réduisant le débit sanguin de la région étudiée, ou en l'augmentant par inhalation d'oxygène, éventuellement sous pression (45).

Il nous paraît aussi nécessaire de signaler quelques effets produits par l'oxygène seul. CONGER et Col. (19) ont observé les abérations chromosomiques analogues à celles produites par les rayons X dans les microspores de *Tradescantia* sous l'effet de tensions en oxygène supérieures à l'air. Des expériences portant sur des racines de *Vicia Faba* confirment les résultats précédents (30) : sous de fortes pressions d'oxygène (30 à 60 atmosphères), on constate en effet des ruptures de chromosomes et une distribution des cassures identique à celle trouvée après irradiation.

b) *Dérivés naphtoquinoniques.*

Les expériences de MITCHELL (59), réalisées *in vivo* et *in vitro*, tendent à faire attribuer aux dérivés naphtoquinoniques (ou plus exactement aux sels tétrasodiques — synkavit — des vitamines K de synthèse) des propriétés radiosensibilisantes. Le mécanisme d'une telle activité n'est pas encore élucidé, et ces résultats ne sont pas confirmés par tous les auteurs.

B) Radioprotection.

De nombreuses substances chimiques sont susceptibles de jouer un rôle protecteur vis-à-vis des radiations (6). Cette propriété est très faible et parfois controversée par certains auteurs. Dans tous les cas, la mise en évidence de la radioprotection nécessite, pour être significative, l'emploi d'un très grand nombre d'animaux. Chez les mammifères, on étudie généralement la radioprotection au niveau de la DL/100 de préférence à la DL/50.

On peut distinguer trois types principaux de radioprotecteurs :

— *Les cyanures*, dont le rôle protecteur est net, sont inutilisables en raison de leur toxicité.

— *Les substances aminées à groupements thiols* parmi lesquelles la 2-mercaptoéthyl-amine (M.E.A. ou cystéine-amine) joue un rôle de premier plan *. Ce corps facilement synthétisé est assez peu toxique pour être administré per os. La 2-mercaptoéthyl-amine est un des composés les plus actifs, dont le « dose reduction factor »** est égal à 2. Par opposition aux cyanures la cystéine-amine présente un certain pouvoir curatif quand elle est administrée après irradiation.

— *Les agents de chélation*, dont l'activité protectrice a été démontrée in vitro sur les polyméthacrylates, sont également pour certains, comme le Diethyldithiocarbamate, des radioprotecteurs in vivo. Leur emploi est cependant limité par leur toxicité.

Ces propriétés se retrouvent également chez d'autres composés parmi lesquels on peut citer les amines indoliques (sérotonine et tryptamine) les acides carboxyliques (formiates) et des molécules à groupement hydroxyle (alcools et sucres).

L'étude générale des radioprotecteurs conduit les auteurs à émettre les propositions suivantes (6) :

— le radioprotecteur doit être présent au cours de l'irradiation,

— les phénomènes de protection doivent s'observer sur tous les substrats radiosensibles, avec cependant des gradients d'efficacité,

*La fonction amine que possèdent les composés de ce groupe semble participer au phénomène de protection ; quelques amines simples seraient également radioprotectrices.

**« Dose reduction factor » (DRF) ou facteur de réduction de la dose : chiffre par lequel il faut multiplier la dose sous protection pour obtenir une mortalité identique à celle que l'on obtiendrait sans protection.

— le pouvoir protecteur est considérablement diminué quand il s'agit de radiations corpusculaires (à ionisation dense).

Enfin, s'il existe en général une relation entre la radioprotection et l'anoxie consécutive à l'administration des substances actives, l'effet anoxiant n'est pas le seul mécanisme que l'on puisse invoquer. Il se pourrait aussi que les radioprotecteurs, notamment le M.E.A., agissent par compétition avec les substrats biologiques pour les radicaux libres formés lors de la radiolyse de l'eau. Il a été avancé également que la M.E.A. pourrait se fixer sur les protéines cellulaires, les rendant moins aptes à réagir avec les radicaux libres.

On voit ainsi comment l'étude de la radioprotection permet d'aborder le mécanisme de l'action biologique des radiations ionisantes.

C) Radiomimétisme.

Le terme de « radiomimétique » englobe un grand nombre de substances et n'a pas forcément une signification identique pour le clinicien et le radio-biologiste. Une activité cytotoxique et même plus précisément une action antimittotique ne doivent pas obligatoirement être assimilées à un effet radiomimétique.

Avec P. DUSTIN (29), on peut distinguer parmi les facteurs chimiques de mito-inhibition : les agents « mitoclasiques » ou poisons fusoriaux (colchicine, podophylline, hydroquinone, etc...), et les agents « chromoclasiques » ou poisons chromosomiques ; les « radiomimétiques » doivent se classer dans ce dernier groupe. Les effets cellulaires engendrés par les agents chromoclasiques peuvent se résumer comme suit :

- fragmentation des chromosomes ou « action chromoclasique » (25), avec toutes ses conséquences : mitoses irrégulières, fragments acentromériques, ponts anaphasiques...,

- arrêt des mitoses,
- hypertrophie progressive des noyaux dont la division est inhibée,
- destruction pycnonécrotique des cellules des régions germinatives.

Ces différents effets sont provoqués à la fois par les substances antimétaboliques (2,6-diaminopurine ; 6-mercaptopurine ; aminoptérine) et les agents alkylants (ypérites ; diépoxydes ; dérivés de l'éthylène-imine) aptes à provoquer par alkylation des phénomènes de pontage (cross-linking) inter ou intramoléculaires.

La réponse cellulaire provoquée par ces substances (effet sur la caryocynèse et effets mutagènes) présente avec les lésions engendrées par les radiations ionisantes des analogies qui ont amené A.-P. DUSTIN (28) à qualifier ces agents de « radiomimétiques ». Cette analogie n'est cependant pas totale. Par exemple, les antimétabolites à action chromoclasique et mutagène ne sont pas cancérogènes et c'est pourquoi A.-P. DUSTIN a proposé d'appeler les agents de ce groupe « poisons radiomimétiques ou mieux poisons chromosomiques partiels » (29).

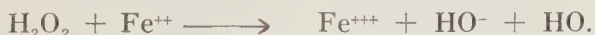
D'autres différences apparaissent : si l'on considère la localisation des fragmentations chromosomiques, les cassures provoquées par les radiations X se produisent au hasard ; les agents chromoclasiques, par contre, provoquent des fragmentations plus fréquentes au niveau des chromosomes courts.

Lorsque l'on étudie la localisation des points de cassure sur les chromosomes longs, comparativement à la localisation de l'hétérochromatine, on constate que, sous l'influence des radiations ionisantes, les fragmentations peu nombreuses au niveau de l'hétérochromatine sont distribuées au hasard. Avec les agents chimiques par contre, on obtient une nette accumulation des fragments dans le bras porteur du satellite au niveau de la zone d'hétérochromatine (70).

Mais ce ne sont là que des effets cellulaires. Ces radiomimétiques injectés par voie sous-cutanée sont également capables de provoquer, comme les radiations ionisantes, la décoloration des poils chez la souris. Ils peuvent aussi, pour certains, inhiber la croissance des tissus tumoraux.

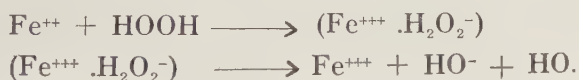
Malgré la diversité des mécanismes d'action, cette similitude des effets biologiques permet sans doute de réunir, dans un même groupe pharmacologique, la plupart des médicaments utilisés pour leurs propriétés antitumorales. Cependant, si l'on admet que le processus de radicalisation est à l'origine des radiolésions, il serait peut-être logique de réserver le terme de « *radiomimétiques* » aux seuls agents chimiques susceptibles de libérer dans les milieux biologiques des radicaux libres et, plus particulièrement, des radicaux libres hydroxyles.

La mise en évidence d'une telle réactivité chimique n'est pas nouvelle (61). Dès 1894, FENTON (33) signalait qu'il était possible d'exalter les propriétés oxydantes du peroxyde d'hydrogène en lui associant un agent réducteur, le sulfate ferreux -Fe (II) — (réactif de Fenton). Quarante ans plus tard, HABER et WEISS (40) proposaient la première explication valable de ce phénomène apparemment paradoxal, en envisageant l'intervention dans ces réactions d'intermédiaires radicaliques (HO. et HO₂.) engendrés par transfert d'électron selon le schéma global :



Plusieurs mécanismes ont été envisagés pour expliquer un tel transfert ; les théories actuelles admettent cependant que les processus de transfert d'électron conduisent à l'apparition d'un complexe primaire ionique entre les partenaires réagissant — $\text{A} + \text{B} \rightarrow (\text{A}^+.\text{B}^-)$ — complexe primaire dont la vie est très brève et qui se dissocierait par interaction avec les molécules du solvant.

C'est ainsi que le réactif de Fenton engendre la suite de réaction :



Parmi les ions métalliques de la série de transition, l'ion ferreux s'est révélé être le plus actif dans la genèse des radicaux libres hydroxyles, suivi des ions cobalteux, cuivreux et manganeux. La réaction initiatrice peut être généralisée :



L'oxygène moléculaire peut aussi, comme le peroxyde d'hydrogène, être activé par les ions ferreux en solution aqueuse (autoxydation) (62) et engendrer des radicaux libres hydroxyles. WEISS propose le mécanisme global :



Le peroxyde d'hydrogène formé peut alors réagir par réaction de Fenton.

Il existe essentiellement trois facteurs qui permettent de sensibiliser la genèse des radicaux libres hydroxyles soit par le réactif de Fenton, soit par autoxydation des ions ferreux (17) :

- la chélation de l'ion ferreux notamment par l'éthylène-diaminetétracétate sodique — EDTA — (chélate 1/1),
- un pH voisin de la neutralité (7 à 7,5),
- l'acide ascorbique (AH_2) qui se révèle un puissant effecteur de la réaction en permettant la réduction des ions ferriques formés, suivant l'équation :



Le système EDTA-Fe (II) — acide ascorbique — oxygène constitue le réactif d'Udenfriend (80) dont l'action a été attribuée aux radicaux libres hydroxyles (62, 17).

Les effets chimiques de tels systèmes ne sont pas tous élucidés. On sait cependant qu'ils peuvent provoquer des hydroxylations dans des conditions voisines de celles que

nécessite l'hydroxylation biochimique*. Par contre, les effets observés sur quelques substrats biologiques** sont souvent comparables à ceux obtenus avec les radiations ionisantes.

— Les effets biologiques mettent également en évidence une telle analogie : il a été signalé en effet, que le réactif de Fenton est doué de propriétés mutagènes (23, 24, 26, 64) mais il ne semble pas, à notre connaissance, que l'on ait déjà envisagé l'action de ces réactifs chimiques sur l'animal.

C'est ce qui nous a incité à reprendre cette étude afin de préciser la toxicité, les répercussions hématologiques et tissulaires de systèmes chimiques formateurs de radicaux libres inorganiques et de rechercher les modifications éventuelles de la radiosensibilité qu'ils sont susceptibles de provoquer.

*Les systèmes enzymatiques responsables nécessitent à la fois des ions métalliques de la série de transition, de l'oxygène moléculaire et la présence de substances réductrices AH_2 , phosphopyridine nucléotide).

**Travail du Laboratoire de Chimie de la CRSSA.

II. — TRAVAIL PERSONNEL.

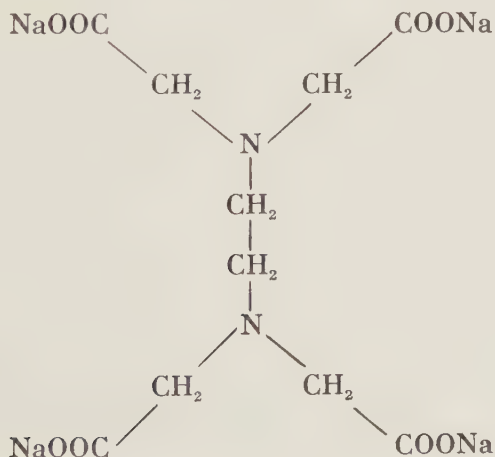
II. — 1. PROTOCOLE GENERAL

Nous avons été amené à limiter nos recherches sur l'action biologique des radicaux libres inorganiques au cas des systèmes chimiques générateurs de radicaux libres hydroxyles ou perhydroxyles (après activation du peroxyde d'hydrogène ou de l'oxygène moléculaire par l'ion ferreux chélaté, en présence ou non d'acide ascorbique) et aux effets de ces réactifs sur la souris.

A) Produits utilisés.

a) *L'agent de chélation.*

L'agent séquestrant employé au cours de toute notre expérimentation est l'éthylènediaminetétracétate tétrasodique (EDTA) de formule brute $C_{10}H_{12}O_8N_2Na_4$; son poids moléculaire est de 380,20.



b) *Le chélate ferreux.*

Le chélate monoferreux (EDTA Fe(II)) est préparé sous atmosphère inerte (azote) en dissolvant du sulfate ferreux cristallisé dans une solution aqueuse désoxygénée d'EDTA. Le sel ferreux utilisé, de formule $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, a un poids moléculaire de 278,03.

Dans un premier temps, une quantité déterminée d'EDTA, préalablement pesée, est mise en solution dans 100 ml. d'eau distillée. Dans cette solution aqueuse, on fait barboter pendant 15 minutes de l'azote (azote dont on a pris soin d'éliminer toute trace d'oxygène par passage au travers d'une solution alcaline de pyrogallol). La solution, recouverte d'une épaisse couche d'huile de paraffine est soumise à un vide poussé (15 mm. de mercure) pendant 15 minutes sous cloche à vide. On rétablit alors une pression normale sur la surface liquidienne par introduction d'azote dans la cloche. L'opération est renouvelée trois fois. Dans cette solution désoxygénée il est enfin ajouté du sulfate ferreux à l'état cristallisé, en quantité équimoléculaire à l'EDTA. Les cristaux traversent la couche d'huile de paraffine et entrent en contact avec la solution d'EDTA. Le sel ferreux se dissout, par agitation régulière et lente (agitateur magnétique), la surface liquidienne restant toujours sous atmosphère d'azote.

La solution du chélate monoferreux ainsi formée doit être rigoureusement *incolore*. Elle est conservée en ampoules scellées *.

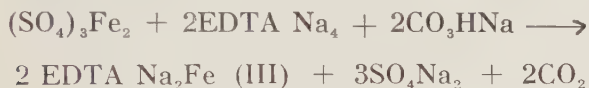
*Le conditionnement s'effectue de la façon suivante : les ampoules sont mises sous cloche à vide en même temps que la solution aqueuse d'EDTA qui doit subir la désoxygénation ; par conséquent, à la fin des opérations de préparation de l'EDTA-Fe (II), l'atmosphère interne de chaque ampoule est saturée en azote. Ces ampoules sont alors placées, pointes ouvertes vers le bas, sur la solution d'EDTA-Fe (II) recouverte d'huile de paraffine. Après un vide poussé, on rétablit la pression normale dans la cloche avec de l'azote. Les ampoules, une fois remplies, sont scellées aussitôt sous azote.

Préparées et conservées dans ces conditions, ces solutions de chélate ferreux sont parfaitement stables et demeurent incolores ; nous évitons ainsi au maximum l'autoxydation de l'ion ferreux qui se produit très rapidement au contact de l'oxygène dissous.

c) *Le chélate ferrique.*

On le prépare en mettant en présence d'une part une solution aqueuse d'EDTA et de carbonate acide de sodium (CO_3HNa), et d'autre part du sulfate ferrique $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$ de poids moléculaire 399,87.

Le chélate ferrique se forme suivant la réaction :



et par suite les concentrations molaires relatives seront :

- 0,5 mole de $(\text{SO}_4)_3\text{Fe}_2$
- pour 1 mole d'EDTA
- pour 1 mole de CO_3HNa .

La vitesse de la réaction est faible et le chélate ferrique n'est complètement formé qu'après un délai de 3 heures ; sa solution aqueuse est colorée en *rouge*.

d) *Le système chélate ferreux-acide ascorbique (AH_2).*

La préparation de ce système se fait de façon analogue à celle du chélate ferreux seul. Le sulfate ferreux est ajouté à une solution aqueuse désoxygénée d'EDTA et d'acide ascorbique (PM = 176,1) en quantités équimoléculaires.

e) *Le peroxyde d'hydrogène.*

Nous avons utilisé des solutions aqueuses de peroxyde d'hydrogène préparée par dilution d'une solution mère (eau oxygénée pure 110 volumes « Electro ») dont le litre est vérifié au préalable par manganimétrie.

f) *La 2-Mercaptoéthylamine.*

La 2-Mercaptoéthylamine (MEA) ou cysteinamine nous a été fournie sous forme de chlorhydrate ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$, HCl-P.M 113,6) par la California Corporation.

Il a été vérifié par chromatographie qu'il s'agit d'un produit pur. Les solutions aqueuses de MEA, instables, ont toujours été préparées extemporanément.

B) Animaux d'expérience.

Notre étude biologique a été limitée à la souris. Tout au long de notre expérimentation nous nous sommes efforcé d'utiliser une population animale homogène. C'est dans ce but que les souris employées répondent à quatre critères :

- la souche : souris Swiss albinos ou lignée XVII.
- le sexe : seuls les mâles ont été utilisés.
- l'âge : souris âgées de 2 à 4 mois.
- le poids : tous les animaux d'expérience ont un poids voisin de 20 ± 2 grammes.

Les souris de souche Swiss (albinos) sont fournies par un seul élevage (Ardenay, Sarthe). Dès leur arrivée au laboratoire, elles sont groupées par lots de 10 dans des cages métalliques. Les souris de la lignée XVII proviennent de l'élevage propre du laboratoire qui a pour origine des couples géniteurs provenant de la fondation Curie (Paris). Les animaux de cette dernière souche sont groupés par lot de 6 dans des cages de bois. Tous les animaux d'expérience ont reçu à volonté une alimentation équilibrée*, et furent maintenus à une température voisine de 21° C.

Chaque lot expérimental a fait l'objet d'une surveillance quotidienne en ce qui concerne le poids des souris et la létalité.

*Alimentation semi-synthétique mise au point par la fondation Curie (Paris).

C) Source de rayonnement.

Les irradiations ont été pratiquées au moyen d'une source de rayons gamma provenant de la désintégration du cobalt 60 de période 5,4 année.

Cette source de rayonnement est placée dans un appareil « Theratron Senior » (AEC Canada). Cet appareil de thérapie fonctionne au Centre Léon-Bérard (Lyon). Le rayonnement électromagnétique émis peut être focalisé, et possède une énergie moyenne de 1,25 MeV.

II. — 2. RESULTATS EXPERIMENTAUX.

A) Toxicité générale aiguë.

Dans un premier temps, nous avons déterminé la dose létale 50 au trentième jour ($DL_{50}/30$) consécutive à l'injection de différents produits.

La $DL_{50}/30$ est la dose qui tue 50 p. 100 des animaux en trente jours. Cette étude toxicologique a été réalisée chez la souris Swiss après injection intra-péritonéale. Le volume total de liquide injecté a toujours été inférieur à 0,5 ml.

Les $DL_{50}/30$ ont été successivement déterminées pour les produits suivants :

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

L'EDTA mono ferrique (système I).

L'EDTA mono ferreux (système II).

L'EDTA mono ferreux + AH_2 (système III).

L'EDTA mono ferreux + H_2O_2 (système IV).

L'EDTA mono ferreux + AH_2 + H_2O_2 (système V).

Dans le cas des systèmes IV et V, l'injection de peroxyde d'hydrogène in situ suit immédiatement celle des systèmes ferreux.

Les $DL_{50}/30$ ont été établies à partir de la courbe des probits de mortalité en fonction de la dose en échelle arithmétique * pour un lot de 10 souris. La figure 8 repré-

*Mode de détermination couramment utilisé en radiobiologie (60). L'utilisation d'une échelle logarithmique (employée en Pharmacologie) n'apporte d'ailleurs aucune variation à l'établissement de la DL_{50} .

Produits	DL 50/30 (mmole/kg souris)	Toxicité relative par rapport à H2O2
Peroxyde d' Hydrogène	7,20	1,0
Système I EDTA-Fe (III)	1,63	4,4
Système II EDTA-Fe (II)	0,72	10,0
Système III EDTA-Fe(II)-AH2	0,59	12,0
Système IV. EDTA- Fe(II) + H2O2	0,20	36,0
Système V. EDTA- Fe(II)-AH2+H2O2	0,16	45,5

Tab.2- Doses Letales 50 au trentième jour.

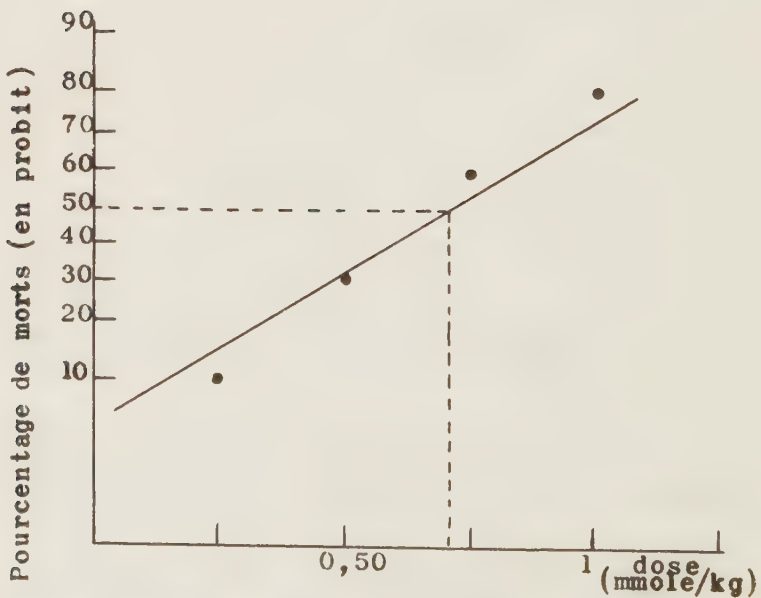


Fig.8- Etablissement de la DL50/30(EDTA-Fe II).

sente à titre d'exemple le cas du système II. Les doses de toxicité pour les différents systèmes sont exprimées en millimole par kilogramme souris (mmole/kg.), relativement à la concentration en ion ferreux. Enfin nous avons déterminé dans des conditions identiques, la toxicité du peroxyde d'hydrogène, choisie comme référence, et à laquelle il a été attribuée, par rapport aux systèmes, une valeur égale à l'unité (tableau 2).

B) Pathologie générale.

a) Mortalité.

La courbe de mortalité en fonction du temps, établie avec les mêmes produits sur 180 souris, pour des doses létales comprises entre 16 et 84 %, met en évidence une distribution trimodale de la létalité (figure 9).

Un premier pic de mortalité s'étale entre le temps zéro et le sixième jour avec un maximum au deuxième. Il est suivi d'un deuxième pic moins accentué entre le sixième et le dixième jour dont le maximum se situe au huitième jour. Enfin, vers le douzième jour, nous notons un troisième maximum correspondant à un dernier pic de mortalité. Entre chacun de ceux-ci, la mortalité ne tombe jamais à zéro et après le vingtième jour et jusqu'au trentième on observe encore quelques cas isolés de mortalité.

b) Poids.

La courbe de poids établie dans les mêmes conditions, quotidiennement, sur les souris survivantes, traduit deux variations pondérales significatives : la première, comprise entre le temps zéro et le septième jour, la seconde, du septième au quinzième jour. Passé ce délai, les souris qui survivent récupèrent rapidement leur poids initial (figure 10).

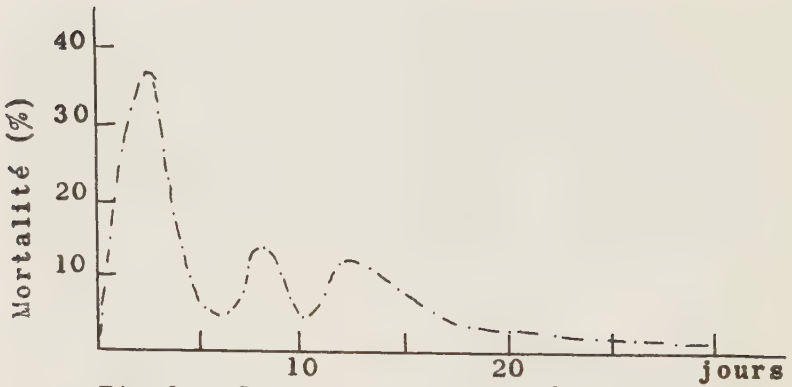


Fig.9 - Courbe de mortalité.

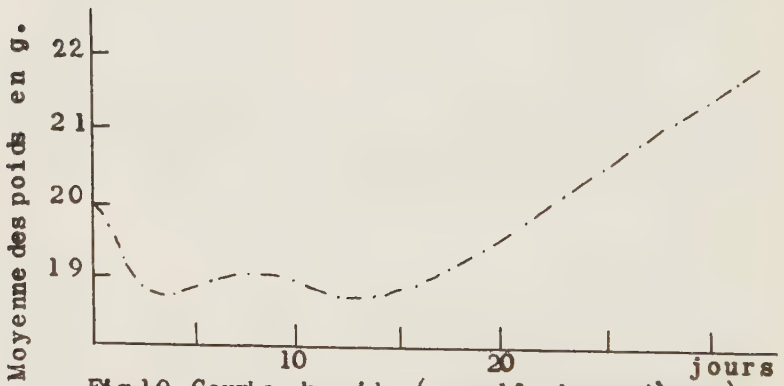


Fig.10 - Courbe de poids (ensemble des systèmes).

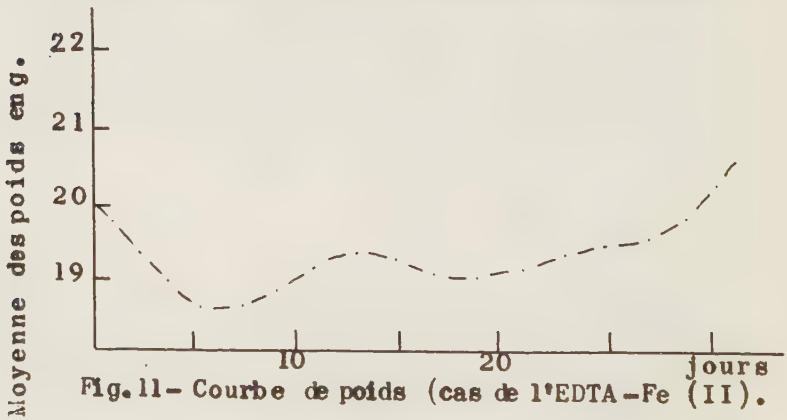


Fig.11 - Courbe de poids (cas de l'EDTA-Fe (II)).

Cet aspect des courbes de poids et de mortalité est particulièrement mis en évidence pour un lot de 10 souris ayant reçu une injection de 0,75 mmole d'EDTA mono ferreux (figure 11).

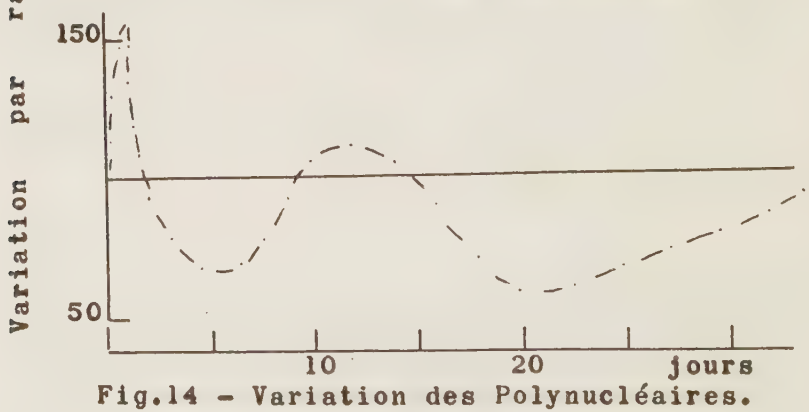
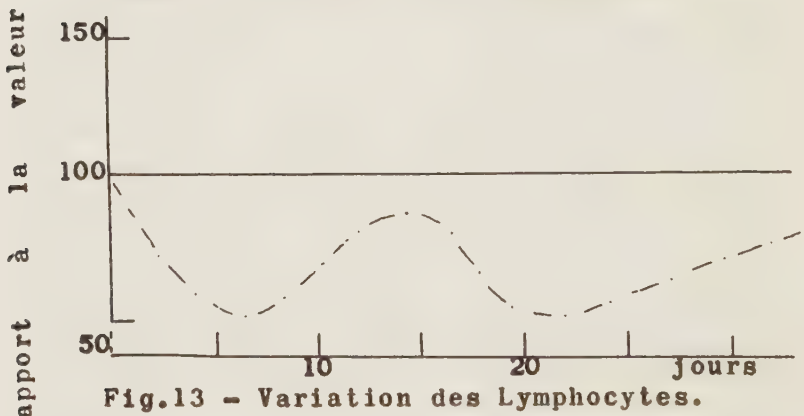
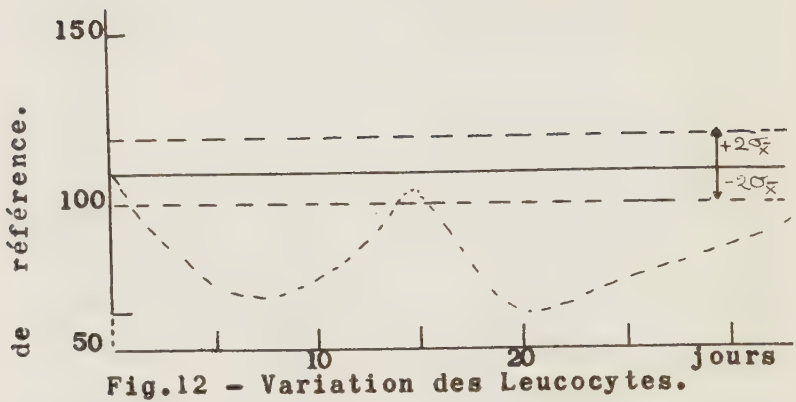
c) Autres manifestations.

Pour de fortes doses de produits, les animaux ne survivent que quelques minutes et la mort survient toujours dans le même tableau clinique. Quelques secondes après l'injection apparaissent les premières manifestations toxiques, notamment des crises excitomotrices d'une durée de quelques secondes et qui se reproduisent à des intervalles très rapprochés, avec hérisssement du poil. Les crises s'espacent au bout de quelques minutes et ne sont plus généralisées. Alors, seul le train postérieur est atteint comme paraît le traduire l'extension des pattes arrière de l'animal. La respiration s'accélère progressivement, puis devient irrégulière. Enfin l'animal meurt en 10 minutes, le plus souvent au cours d'une crise convulsive. Aux doses inférieures, permettant une survie de plusieurs jours, nous avons noté en plus de la perte de poids, des diarrhées persistantes et qui deviennent sanguinolantes après quelques jours d'évolution. Les animaux qui meurent après le cinquième jour présentent un syndrome hémorragique et infectieux aigu. Ces phénomènes laissent prévoir une atteinte des épithéliums intestinaux et des organes hématopoïétiques.

Enfin, il a été constaté plusieurs cas de cannibalisme parmi les lots en cours d'expérience.

C) Effets hématologiques.

Afin d'éviter le risque d'une destruction cellulaire, simplement liée aux effets oxydants du peroxyde d'hydrogène, seules ont été étudiées les atteintes hématologiques consécutives à l'injection intra-péritonéale de l'ion ferreux chélaté à l'EDTA (système II). Le chélate est injecté



à un lot de 40 souris Swiss à la dose de 0,72 mmole par kilogramme soit la $DL_{50}/30$.

Des prélèvements de sang périphérique ont été pratiqués par ponction sanguine après section de l'extrémité de la queue, quotidiennement jusqu'au dixième jour, et toutes les 48 heures du dixième au quarantième jour. Les échantillons recueillis sont suffisants pour permettre d'effectuer une numération des leucocytes par dilution et comptage sur cellule de Bürker, et d'établir une formule après étalement et coloration au May-Grümwald Giemsa.

Deux numérations réalisées avant l'injection du système nous ont servi de valeur de référence, compte tenu de l'écart-type de la moyenne (100 ± 12 pour un coefficient de probabilité P de 0,05).

Les résultats obtenus, portés en graphique dans la figure 12, mettent en évidence une baisse significative des leucocytes pendant les 6 premiers jours (la différence des moyennes est hautement significative avec $P < 0,01$), suivie d'une remontée partielle atteignant son maximum au quinzième jour. On observe ensuite une nouvelle chute régulière jusqu'au vingt et unième jour, puis le nombre des éléments blancs tend à augmenter à nouveau mais n'a pas encore retrouvé au trentième jour sa valeur initiale.

L'examen des formules nous a permis de suivre les variations des mononucléaires (fig. 13) et des polynucléaires (fig. 14) en fonction du temps. Tandis que la première courbe traduit une variation des lymphocytes analogue à celle des leucocytes, la seconde au contraire présente un pic de granulocytose s'étalant entre le temps 0 et le troisième jour, avec un maximum au premier jour, suivi d'une granulopénie qui s'estompe du sixième au douzième jour pour s'accroître à nouveau jusqu'au vingt et unième jour.

D) Effets histologiques.

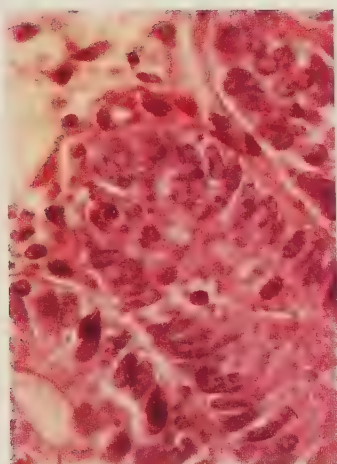
L'étude histologique a été limitée chez la souris à l'examen du duodénum. Le système II, seul utilisé, est injecté par voie intra-péritonéale à la dose de 1,5 mmole par kilogramme, et les animaux sont sacrifiés de 5 à 24 heures après l'injection. Immédiatement prélevé, le duodénum est fixé au Duboscq-Brasil. Après 8 heures de fixation, la déshydratation des prélèvements est poursuivie par maintien durant 2 heures dans des bains constitués par des solutions aqueuses d'alcool éthylique à des concentrations croissantes, d'alcool absolu et enfin de xylol pur*. Enfin après 2 bains de 2 heures dans la paraffine à 46°, les prélèvements sont définitivement inclus dans la paraffine. On pratique ensuite sur ces blocs des coupes de 5 microns d'épaisseur, coupes longitudinales et transversales du duodénum qui sont colorées à l'hémalum-éosine-safran.

L'observation microscopique montre l'intégrité des villosités et des glandes de Brünner mais il apparaît des modifications caractéristiques au niveau des glandes de Lieberkühn, notamment (fig. 15-a) :

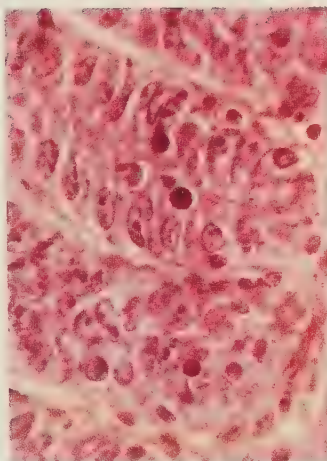
- Des lésions « pycnonécrotiques » plus marquées vers la septième heure.
- Une diminution apparente du nombre des mitoses jusqu'à la sixième heure, suivie d'une restauration ultérieure de l'activité mitotique.
- Des mitoses anormales : abortive, polyploïde (cellules à 3 noyaux).

Quand les animaux survivent quelques jours la restitution ad integrum est constatée dès la trente-sixième heure.

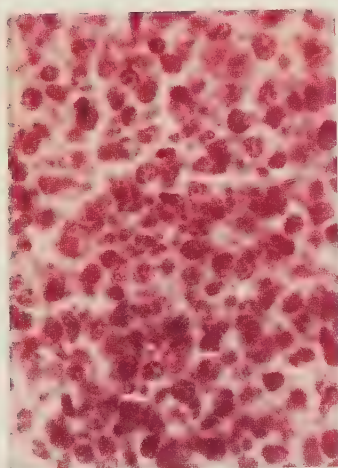
*Ces opérations de déshydratation sont effectuées automatiquement par l'appareil Autotechnicon — Technique utilisée au Laboratoire d'Anatomie pathologique de l'hôpital Desgenettes (Lyon).



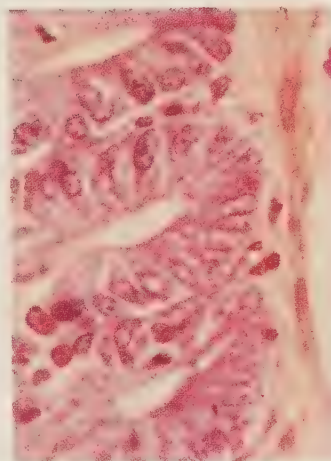
a - EDTA - Fe (II)
(Duodénum)



b - Rayons X
(Duodénum)



c - EDTA - Fe (II)
(plaque lymphoïde)



d - Témoin
(Duodénum)

D'autre part les plaques lymphoïdes sont également touchées par le processus lésionnel. Il existe à leur niveau de nombreux débris cellulaires, reliquat des lymphocytes nécrosés (fig. 15-c).

E) Modification de la toxicité par la cystéinamine (MEA).

Les effets précédemment décrits nous ont incité à rechercher un antagonisme éventuel entre les systèmes (II et IV) et la cystéinamine considérée comme un inhibiteur possible des radiolésions. Nous avons donc été amené à comparer la mortalité provoquée par ces systèmes sur des lots d'animaux préalablement traités ou non à la cystéinamine.

La solution aqueuse de chlorhydrate de MEA est injectée par voie intra-péritonéale 15 minutes avant l'injection des systèmes. Dans tous les cas, la quantité de MEA administrée est équimoléculaire à celle de l'ion ferreux chélaté.

Les résultats, consignés dans le tableau 3, montrent que la toxicité de l'EDTA-Fe (II) à la dose de 0,5 mmole/kg. est accrue par l'injection préalable de cystéinamine. Pour le nombre d'animaux utilisés, cette augmentation de la mortalité est significative. Par contre, la toxicité du Système IV à la dose de 0,15 mmole/kg. loin d'être augmentée est diminuée chez les animaux traités à la MEA.

Sans doute les différences observées dans ce dernier cas sont-elles relativement faibles et il y aurait intérêt à poursuivre ces essais pour confirmer ces résultats.

Systèmes	Nombre de souris traitées	Nombre de morts	% de morts
EDTA-Fe ⁺⁺	61	21	32,7
EDTA-Fe ⁺⁺ + cystéineamine	61	35	57,3
EDTA-Fe ⁺⁺ + H 2 O 2	121	45	37,1
EDTA-Fe ⁺⁺ + H 2 O 2 + cystéineamine	121	35	28,8

Tab.3 - Modification de la toxicité par
la Cystéineamine.

F) Modification de la radiosensibilité par l'EDTA-Fe (II).

Cette étude a été effectuée par comparaison de la mortalité, consécutive à une irradiation totale chez des souris (lignée XVII), traitées ou non au chélate ferreux.

Les souris sont irradiées par lot de 10 dans des cages de « plexiglas », percées de trous pour permettre une aération suffisante, et recouverte d'un couvercle de même matière pour homogénéiser la dose en éliminant le phénomène de transition. Dans chaque lot, cinq souris, auxquelles avait été injecté 0,5 ml. de sérum physiologique par voie parentérale, ont servi de témoin ; les cinq autres ont reçu immédiatement avant l'irradiation une injection intra-péritonéale de 0,5 ml. d'une solution d'EDTA-Fe (II) de 0,1 mmole par kg. (soit le dixième de la $DL_{50}/30$ pour cette espèce). Cette quantité d'EDTA-Fe (II) n'entraîne à elle seule aucune manifestation toxique.

Chaque lot de 10 souris est placé à 1 mètre du foyer d'émission des rayons gamma. A cette distance, le débit de la bombe au cobalt est de 12 rads par minute. Après un temps d'irradiation de 45 minutes 48 secondes, la dose totale d'irradiation est de 550 rads.

Les résultats rapportés dans le tableau 4 mettent en évidence une très nette augmentation de la radiosensibilité chez les souris ayant reçu une injection intra-péritonéale d'EDTA-Fe (II) à dose subtoxique (fig. 16).

	Nombre de souris.	Nombre de morts	% de morts
Témoins rayon γ (550 rads)	20	4	20 %
Souris trai- tées. rayon γ (550 rads + EDTA-Fe 0.1 mmole/kg)	20	14	70 %

Tab.4 - Modification de la Radiosensibilité
par l'EDTA-Fe⁺⁺

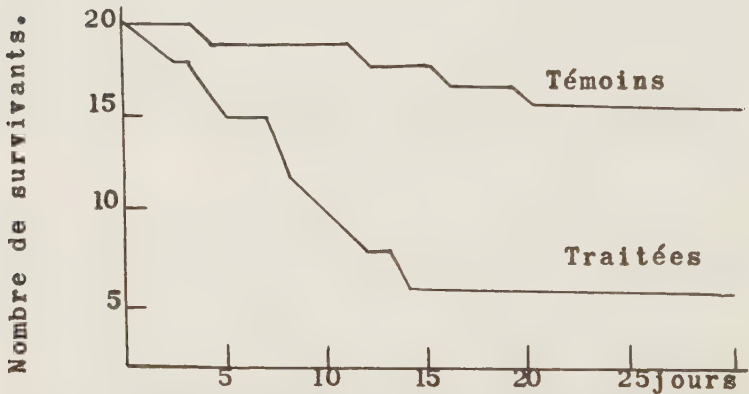


Fig.16 - Modification de la Radiosensibilité
par l'EDTA-Fe (courbe de mortalité)

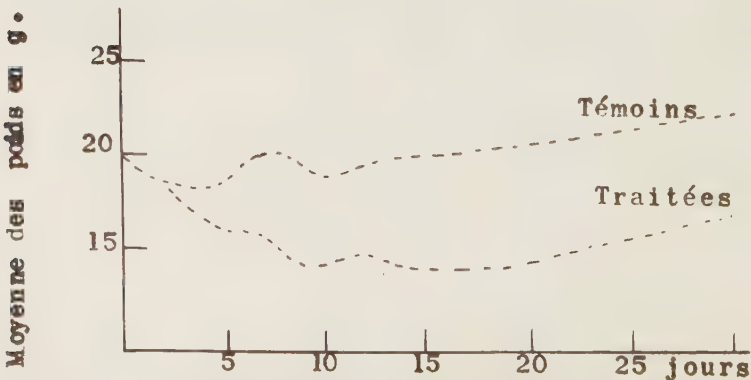


Fig.17 - Modification de la Radiosensibilité
par l'EDTA-Fe (courbe des Poids)

II. — 3. DISCUSSION DES RESULTATS.

A) Toxicité générale aiguë.

La toxicité des différents systèmes, exprimée par la DL 50 au trentième jour, ne peut être attribuée à un processus de déplacement cationique par l'agent séquestrant. les chélates ferreux ou ferrique à l'EDTA sont en effet beaucoup plus stables que leur homologues calcique ou magnésien (73), comme en témoignent les valeurs logarithmiques des constantes de stabilité (K_2)*.

Mg^{++}	$\log K_2$	=	8,69
Ca^{++}	$\log K_2$	=	10,59
Fe^{++}	$\log K_2$	=	14,22
Fe^{+++}	$\log K_2$	=	25,00

Cette toxicité ne peut s'expliquer non plus par un effet cumulatif des différents constituants comme le montrent les valeurs de toxicité relative (tableau 2). Par contre le mécanisme d'action de ces systèmes peut s'interpréter partiellement si l'on admet la formation de radicaux libres hydroxyles HO. engendrés par transfert d'électron (cf. ch. I-4-c) soit à partir du peroxyde d'hydrogène par réaction de Fenton, soit à partir de l'oxygène moléculaire avec formation de peroxyde d'hydrogène suivie de réaction de Fenton. La différence entre les résultats de la $DL_{50}/30$ du système I, ne pouvant entraîner d'emblée une réaction de Fenton, et ceux du système II semble confirmer cette hypothèse. A l'appui de celle-ci vient s'ajouter aussi l'accroissement de toxicité des systèmes II et IV par adjonction d'acide ascorbique. Nous avons vu en effet précédem-

* La stabilité du chélate est directement liée à la valeur de K_2 .

ment que l'acide ascorbique était un puissant effecteur de la formation des radicaux libres (cf. chap. I-4-C).

B) Pathologie générale.

L'aspect des courbes de mortalité est caractéristique. Les trois périodes de mortalité, que traduisent les résultats portés en graphique dans la figure 9, sont significatives et présentent une distribution chronologique analogue à celle observée après irradiation X à forte dose (4).

Cependant, alors que le premier pic de mortalité obtenu avec les systèmes est situé au deuxième jour, pour une irradiation il est retrouvé au quatrième jour. La cause des cas de létalité au quatrième jour après irradiation a été attribuée à une atteinte du tractus digestif. Dans le cas de nos systèmes il pourrait en être de même ; les lésions histologiques observées au niveau de l'intestin semblent en témoigner. Il faut remarquer que, si une irradiation peut léser l'épithélium intestinal, elle le fait sans localisation ; tandis que l'injection des systèmes par voie intra-péritonéale crée, par le fait même de l'injection, un traumatisme purement local qui est susceptible de s'étendre avec la diffusion du produit dans l'organisme. Cette atteinte locale expliquerait l'importance de ce premier pic de mortalité par rapport aux suivants.

Les létalités qui correspondent au deuxième pic, huit jours après irradiations, ont encore une origine discutée ; nous nous bornerons seulement à souligner l'analogie avec nos résultats expérimentaux.

Quant au troisième pic de mortalité qui, lors d'une irradiation, est attribué à une atteinte médullaire, il est également retrouvé après injection des différents systèmes.

Les courbes de poids, étudiées par LAMERTON (52) chez les animaux irradiés, présentent un aspect identique à

celui engendré par les systèmes : dans les deux cas on observe deux chutes pondérales, l'une précoce et l'autre secondaire.

Avec de fortes doses de rayonnement il a été constaté des lésions nerveuses précoces ; l'injection de fortes doses de chélate entraîne de même des manifestations pathologiques qui traduisent des lésions du système nerveux. Celles-ci peuvent être partiellement attribuées à une hypoxie transitoire consécutive à l'ionisation de l'oxygène moléculaire par le chélate métallique.

Les diarrhées et les hémorragies que l'on peut obtenir dans les jours qui suivent l'injection des systèmes ne sont pas sans présenter une certaine analogie avec les mêmes troubles pathologiques qui ont été observés après irradiation.

C) Effets hématologiques.

La formule sanguine, chez la souris, montre, parmi les éléments mononucléés, une nette prédominance des lymphocytes. Il apparaît donc probable que les modifications quantitatives de mononucléaires, étudiées au cours de notre expérimentation, traduisent des variations de lymphocytes.

Les atteintes hématologiques que nous avons observées après injection du chélate ferreux, sont du même ordre, du moins sous l'angle qualitatif, que celles engendrées par les radiations ionisantes (cf. chap. 1-3-B).

Les différences quantitatives peuvent s'expliquer par la rapidité de dégradation du système EDTA-Fe (II). Il est probable que seuls les organes hématopoïétiques proches du lieu de l'injection seront touchés par le processus lésionnel. Quand le produit atteindra les organes sanguiformateurs plus éloignés (moelle osseuse) il aura perdu la majeure partie de son activité ; l'autoxydation de l'ion ferreux chélaté est en effet extrêmement rapide en présence d'oxygène moléculaire.

D) Effets histologiques.

Il a été réalisé, à titre de comparaison, des coupes d'intestin de souris non traitées (fig. 15-d), et également de souris ayant subi une irradiation de 750 r (fig. 15-b).

La comparaison avec les coupes effectuées sur des souris saines montre que le produit injecté doit être tenu comme responsable des altérations observées. Tout au plus, a-t-il été noté quelques rares cellules nécrotiques sur les coupes témoins, mais le nombre de ces nécroses est inférieur, de façon significative, à celui rencontré sur les coupes provenant de souris ayant subi une injection d'EDTA-Fe (II).

Par contre les modifications obtenues au niveau de l'intestin par ce système sont comparables à celles provoquées par irradiation. Cependant il faut constater, là encore, une différence d'ordre quantitative. Les lésions provoquées par les rayons X paraissent beaucoup plus importantes que celles entraînées par le système chimique générateur de radicaux libres inorganiques. D'autre part, alors que les radiolésions sont extensives et portent sur toute la surface épithéliale du tube digestif, avec le fer ferreux chélaté les lésions ne se retrouvent que par plages localisées. Dans ce dernier cas, l'atteinte cellulaire dépend évidemment de la diffusibilité du réactif qui est rapidement limitée par l'inactivation du produit.

Enfin l'attaque au niveau des plaques lymphoïdes de l'intestin peut en partie expliquer les répercussions hématologiques au niveau du sang périphérique.

E) Modification de la toxicité par la MEA.

Nous avons vu (chap. I-4-B) qu'il a été proposé deux types principaux d'explication pour rendre compte du mécanisme d'action de la cystéinamine sur l'organisme

irradié : la MEA réagirait en réduisant la tension en oxygène intra-cellulaire (anoxie) ou en captant les radicaux libres formés par radiolyse de l'eau.

Ces deux modes d'action sont encore débattus et ne sont pas incompatibles, mais il semble, à l'heure actuelle, que l'on attribue un rôle prépondérant au phénomène d'anoxie (3).

Le chélate ferreux autoxydable est également capable d'entraîner une anoxie transitoire. On comprend dès lors, que loin d'être un dérivé antagoniste, la MEA puisse renforcer la toxicité propre du système EDTA-Fe (II), en accroissant les phénomènes d'anoxie.

La MEA, d'autre part, est susceptible de capter les radicaux libres. Elle inhibe en effet l'hydroxylation aromatique engendrée soit par réaction de Fenton (62), soit par radiolyse de l'eau, comme nous l'avons nous-mêmes étudié (travail inédit).

Aussi pouvait-on s'attendre *in vivo*, avec la MEA, à une diminution de la toxicité du réactif de Fenton qui, à l'inverse de l'EDTA-Fe (II) seul, ne consomme pas d'oxygène moléculaire et, de ce fait, ne doit pas entraîner d'anoxie transitoire.

Nos résultats expérimentaux (EDTA-Fe (II) + H_2O_2) semblent en faveur de cette hypothèse. Sans doute ils nécessiteraient, pour être hautement significatifs, d'être corroborés par d'autres essais. Il n'empêche que des données du même ordre sont souvent rapportées dans la littérature pour justifier d'une activité radioprotectrice

F) Modification de la radiosensibilité.

L'aspect bimodal des courbes de poids chez les souris témoins (fig. 17) ayant reçu une dose d'irradiation de 550 rads, nous permet de vérifier les analogies entre les

courbes pondérales après irradiation et celles après injection des systèmes. L'EDTA-Fe (II) injecté avant irradiation gamma entraîne une modification de la radiosensibilité, par augmentation de la létalité pour une même dose de rayonnement.

Nous avons défini (chap. I-4 A et C) ce que l'on entendait par radiosensibilisant et radiomimétique. Si l'on se rappelle, d'une part, que l'EDTA-Fe (II) est susceptible de libérer des radicaux libres et que, d'autre part, l'on admette le mécanisme d'action chimique des radiations ionisantes *in vivo*, il faut alors considérer l'effet global, observé après injection du chélate ferreux puis irradiation gamma, comme la somme de deux effets identiques. Cette synergie s'accompagne-t-elle d'une potentialisation ? En raison de la précision toute relative de ces mesures de toxicité, il est très difficile de répondre par l'affirmative à cette question.

Les lésions biologiques que nous avons observées sur la souris, après injection intra-péritonéale de systèmes chimiques formateurs de radicaux libres inorganiques, s'apparentent donc à celles qui sont engendrées dans l'organisme sous l'effet des radiations ionisantes.

Nous avons vu (chap. I) que celles-ci, par radiolyse de l'eau, libèrent le radical libre hydroxyle, comme le font les systèmes chimiques, par réaction de Fenton.

Si l'on admet, *in vivo*, le mécanisme d'action chimique des radiations ionisantes (chap. I-2-C), on conçoit alors fort bien qu'il est possible d'observer des lésions comparables à celles provoquées par les rayonnements, du moins sous un angle qualitatif, avec des systèmes chimiques générateurs de radicaux libres.

Nos résultats expérimentaux sont pleinement en accord avec cette hypothèse qui confère à ces systèmes chimiques un mode d'action analogue à celui des radiations ionisantes.

Les analogies portent d'ailleurs sur d'autres phénomènes. En 1950, LIMPEROS (56) signale l'identité entre les effets provoqués par les radicaux libres engendrés par voie chimique et ceux apparus après radiolyse de l'eau sur des solutions d'ADN.

BOYLAND (1951) (13) constate qu'il est possible de provoquer le grisonnement du poil chez la souris par injection sous-cutanée du réactif de Fenton et quelques travaux ultérieurs envisagent l'aspect génétique du problème.

DEMEREK (24) réussit à provoquer chez *Escherichia-Coli* des mutations par addition au milieu de culture de certains ions métalliques et de peroxyde d'hydrogène. Utilisant le réactif de Fenton, DEAN (23) obtient également des mutants de *Bacterium lactis aerogenes*. Etudiant les effets produits par les radicaux libres hydroxyles d'origine chimique sur les chromosomes d'orge, PHILIPS (64) constate en 1956 que les cassures chromosomiques se répartissent d'une façon identique à celle observée après irradiation X.

DUBININ enfin (26), réussit à provoquer dans les cellules de racine de poireau sous l'action du réactif de Fenton, des perturbations chromosomiques (pontages, fragmentations) analogues à celles engendrées par les radiations ionisantes. Comme ces dernières, le réactif de Fenton se révèle donc expérimentalement un agent mutagène.

Rappelons enfin l'étude de quelques effets biologiques provoqués par des radicaux libres organiques et leur analogie avec ceux obtenus après irradiation (35).

Le mécanisme d'action que nous avons invoqué plus haut permet encore d'expliquer les processus de régression tumorale (77, 78) ou de cancérogenèse (41, 78) qui ont été observés après administration de certains chélates métalliques.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié chez la souris, quelques effets biologiques de systèmes chimiques aptes à engendrer des radicaux libres inorganiques, par activation du peroxyde d'hydrogène ou de l'oxygène moléculaire au moyen de l'ion ferreux chélaté à l'éthylène diamine tétracétate sodique.

— Les toxicités générales aiguës, exprimées par la DL 50 au trentième jour, les courbes de mortalité et les variations pondérales permettent déjà de dresser un parallèle entre l'action de ces réactifs et les effets des radiations ionisantes.

— Cette analogie est confirmée par les manifestations pathologiques, notamment les atteintes hématologiques et histologiques observées après administration du chélate ferreux.

— Il a été mis en évidence une action synergique, sinon potentialisatrice, entre les radiations ionisantes et le fer ferreux chélaté. Dans des conditions expérimentales données, il est possible de déceler un certain antagonisme entre le réactif de Fenton exalté par chélation du fer et la cystéinamine dont on connaît l'activité radioprotectrice.

— Les effets observés chez la souris, après irradiation ou après administration des systèmes chimiques, nous amènent à concevoir un processus d'action analogue, à savoir une attaque radicalique des structures biologiques.

— Les divers arguments développés dans ce travail, arguments tant expérimentaux que théoriques, apportent indirectement une contribution à l'étude du mécanisme d'action biologique des radiations ionisantes et permettent d'envisager un nouveau type de « radiomimétiques » : les chélates métalliques autoxydables.

Vu le Doyen :
H. HERMANN.

Le Président de la Thèse :
PROFESSEUR BERGER

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 19 mai 1961.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :

P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALEXANDER (P.), HAMILTON (L.-D.G.) et STACEY (K.-Å.). — *Nature*, 1959, 184, 226-8.
2. ALPER (T.) et HOWARD-FLANDERS (P.). — *Nature*, 1956, 178, 978.
3. ATWOOD (K.-C.). — *Annual Review of Nuclear Science*, 1959, 9, 553-592.
4. AUSTIN (M.-K.), MILLER (M.) et QUASTLER (H.). — *Rad. Res.*, 1956, 5, 303-307.
5. BACQ (Z.-M.) et ALEXANDER (P.). — *Principes de Radiobiologie*, Masson, Paris, 1955.
6. BACQ (Z.-M.). — *Actualités pharmacologiques*, 1957, 10^e série, 5-24.
7. BANE (H.-N.), CONRAD (J.-T.) et TARNOWSKI (G.-S.). — *Cancer Res.*, 1957, 17, 551-566.
8. BOND (V.-P.), SILVERMAN (M.) et CRONKITE (E.-P.). — *Rad. Res.*, 1954, 1, 389-400.
9. BERGONIE (J.) et TRIBONDEAU (L.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1906, 143, 983-984.
10. BLOOM (W.). — *Histopathology of irradiation from external and internal sources*, 1^{re} Edition. *Mc-Craw-Hill book Compagny Inc.*, New-York, 1948.
11. BOND (V.-P.), ROBERTSON (J.-S.). — *Annual Review of Nuclear Science*, 1957, 7, 135-162.
12. BOURNE (E.-J.), STACEY (M.) et VAUGHAN (G.). — *Chemistry and Industry*, 1956, 573-4.
13. BOYLAND (E.) et SARGENT (S.). — *Brit. J. Cancer*, 1951, 5, 433-440.
14. BUCHET (R.). — *Eléments de radiobiologie appliquée*, Masson, Paris, 1960.
15. BUDNICKAJA (E.-V.) et BORISOVA (I.-G.). — *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 1959, 126, 195-197.

16. BUTLER (J.-A.-V.). — *Rad. Res.*, Sup. I, 1959, 403-416.
17. CIER (A.) et NOFRE (C.). — *Bull. Soc. Chim.*, 1959, p. 1523.
18. CIER (A.), NOFRE (C.) et PAQUELIER (A.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1960, 250, 3536-3538.
19. CONGER (A.-D.) et FAIRCHILD (L.-M.). — *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 1952, 38, 289-299.
20. COX (R.-A.), OVEREND (W.-G.), PEACOCKE (A.-R.) et WILSON (S.). — *Proc. Roy. Soc.*, 1958, B 149, 511-533.
21. CRONKITE (E.-P.), BOND (V.-P.) et CONARD (R.-A.). — Dans BEHRENS (C.-F.), *Atomic Medicine*, 3^e Edit., The Williams and Wilkins C^o, Baltimore, 1959, p. 160-189.
22. DALE (W.-M.), GRAY (L.-H.) et MEREDITH (W.-J.). — *Phil. Trans. Roy. Soc.*, 1949, 242 A, 33-62.
23. DEAN (A.-C.-R.) et HINSHELWOOD (C.). — *J. Chem. Soc.*, 1951, 1159-1168.
24. DEMEREC (M.), BERTANI (G.) et FLINT (J.). — *Am. Naturalist*, 1951, 85, 119-131.
25. DEYSSON (G.). — *Exposés Actuels de Biologie Cellulaire*, 1956, p. 241-274.
26. DUBININ (N.-P.), SIDOROV (B.-N.) et SOKOLOV (N.-N.). — *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 1960, 133, n^o 1, 221-224.
27. DUPLAN (J.-F.). — *Horizons Médicaux*, 1959, n^o 66, 22-23.
28. DUSTIN (A.-P.). — *J. Sci. Méd. Lille*, 1934, 52, 561-573.
29. DUSTIN (P.). — *Exposés Actuels de Biologie Cellulaire*, 1956, p. 189-240.
30. EHRENBERG (L.). — *Rad. Res.*, Sup I, 1959, 102-123.
31. EKERT (B.) et MONIER (R.). — *Nature*, 1959, 184, 58-59.
32. ERRERA (M.). — *Am. Naturalist.*, 1960, 94, 111-128.
33. FENTON (H.-J.-H.). — *J. Chem. Soc.*, 1894, 65, 899.
34. FURTH (J.), UPTON (A.-C.) et KIMBALL (A.-W.). — *Rad. Res.*, 1959, Sup. I, 243-264.
35. GARSOU (J.). — *Revue Belge de Pathologie*, 1956, 25, 477-487.
36. GINOZA (W.) et NORMAN (A.). — *Nature*, 1957, 179, 520-521.
37. GLOCKER (R.). — *Zsch. F. Physik.*, 1932, 77, 653.
38. GRAY (L.-Y.). — *Rad. Res.*, Sup. I, 1959, 73-101.

39. GROWTHER (J.). — *Proc. Royal Soc.*, 1924, B. 96, 207.
40. HABER (F.) et WEISS (J.). — *Proc. Roy. Soc.*, 1934, 147 A, 332.
41. HADDOW (A.). — *Ciba Foundation Symposium on carcinogenesis, mechanisms of action*, 1959, 300-307.
42. HASSINSKY (M.). — *La chimie nucléaire et ses applications*, Masson, Paris, 1957.
43. HASSINSKY (M.). — Action chimiques et biologiques des radiations, 4^e série. *Les peroxydes organiques en radiobiologie*, Masson, Paris, 1958.
44. HEMS (G.). — *Nature*, 1960, 186, 710-712.
45. HOWARD-FLANDERS (P.) et WRITH (E.-A.). — *Brit. J. Radiol.*, 1957, 30, 593-599.
46. HUTCHINSON (F.), PRESTON (A.) et VOGEL (B.). — *Rad. Res.*, 1957, 7, 465-472.
47. JACOBSON (L.-O.). — Dans.: HOLLAENDER (A.), *Radiation Biology*, Mc Graw-Hill Book Co. New-York, Vol. I, Part. II, 1954, p. 1029-1090.
48. KELLY (L.-S.). — *Progr. Biophys.*, 1957, 8, 143-163.
49. KHENOKH (M.-A.). — Trudy Perogo Vsesoyuz. Soveshchaniya po Radiatsion. Khim., Akad. Nauk S.S.S.R., Otdel. Khim. Nauk, Moscow, 1957, 188-192.
50. KOPOLDOVA (J.), KOLOUSEK (J.), BABICKY (A.) et LIEBSTER (J.). — *Proc. 2nd. U. N. internation. Conf. peaceful uses of atomic energy*, Geneva, 1958, XXII, p. 492-498.
51. LACASSAGNE (A.) et GRICOUROFF (G.). — *Action des Radiations Ionisantes sur l'organisme*. 2^e Edit., Masson, Paris, 1956.
52. LAMERTON (L.-F.), ELSON (L.-A.), HARRIS (E.-B.) et CHRISTENSEN (W.-R.). — *Brit. J. Radiol.*, 1953, 26, 510 et 568.
53. LANGHAM (W.), WOODWARD (K.-T.), ROTHERMEL (S.-M.), HARRIS (P.-S.), LUSHBAUGH (C.-C.) et STORER (J.-B.). — *Rad. Res.*, 1956, 5, 404-432.
54. LEA (D.-E.). — *Action of radiations on living cells*, Cambridge University Press, 1955.
55. LEBLOND (C.-P.) et WALKER (B.-E.). — *Physiol. Rev.*, 1956, 36, 255-276.
56. LIMPEROS (G.) et MOSHER (W.-A.). — *Am. J. Roentgenol. Radium Therapy*, 1950, 63, 681.

57. LUSHBAUGH (C.-C.). — *Annual Review of Nuclear Science*, 1957, 7, 163-84.
58. MAISIN (J.), MAISIN (H.), DUNJIC (A.) et MALDAGUE (P.). — *J. Belge Radiol.*, 1957, 40, 75-106.
59. MITCHELL (J.-S.). — *Radiology Symposium, Proc.*, Liège, 1954, 170-193.
60. MOLE (R.-H.). — *Rad. Res.*, 1959, Sup. I, 124-148.
61. NOFRE (C.). — Thèse de Pharmacie (2^e sujet), Lyon, 1960.
62. NOFRE (C.), CIER (A.) et LEFIER (A.). — *Bull. Soc. Chim.*, 1961, p. 530-535.
63. PAQUELIER (A.), CIER (A.), MOURIQUAND (C.), CLÉMENT (J.-M.) et NOFRE (C.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1961, 252, 1227-1229.
64. PHILLIPS (L.-L.). — *Science*, 1956, 124, 889-890.
65. PHILLIPS (G.-O.), MOODY (G.-J.) et MATTOCK (G.-L.). — *J. Chem. Soc.*, 1958, 3522-3534.
66. PHILLIPS (G.-O.) et MOODY (G.-J.). — *J. Chem. Soc.*, 1960, 754-761.
67. PHILLIPS (G.-O.) et MOODY (G.-J.). — *J. Chem. Soc.*, 1960, 762-768.
68. QUASTLER (H.), SHERMAN (F.-G.) et CRONKITE (E.-P.). — *Proc. 2nd. U.N. Internation. conf. peaceful uses of atomic energy*, Geneva, 1958, XXII, p. 202-205.
69. QUASTLER (H.). — *Radiology*, 1959, 73, 161-165.
70. REVELL (S.-H.). — Symposium on Chromosome breakage. *Heredit*y, 1953, Sup. Vol. 6, 107-124.
71. ROUX (H.). — *Notions de radiobiologie*, Masson, Paris, 1960.
72. SCHOLÉS (G.) et WEISS (J.). — *Rad. Res.*, 1959, Sup. I, 177-189.
73. SCHWARZENBACH (G.) et Coll. — *Helv. Chim. Acta*, 1947, 30, 1798 — 1951, 34, 576 et 1503.
74. SHAPIRO (N.-I.). — *Revue de Radiobiologie*. Académie des Sciences U.R.S.S. — Institut de Physique Biologique, 1956.
75. STEIN (G.) et WEISS (J.). — *J. Chem. Soc.*, 1949, 3256-3263.
76. SWANN (M.-M.). — *Cancer Res.*, 1957, 17, 727-757.
77. SYRKIN (A.-B.). — *Uspekhn Sovremennoi Biol.*, 1960, 49, 305-319.

78. TAKAMIYA (K.). — *Nature*, 1960, 185, 190-191.
79. TARUSOV (B.-N.). — *Proc. 2nd. U.N. Internation. conf. peaceful uses of atomic energy.*, 1958, XXII, p. 541-543.
80. UDENFRIEND (S.), CLARK (T.), AXELROD (J.) et BRODIE (B.-B.). — *J. Biol. Chem.*, 1954, 208, 731-739.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.	13
I. — GENERALITES.	15
I. — 1. <i>Effets chimiques des radiations ionisantes.</i> ...	17
A) Notions sur les radiations ionisantes.	17
B) Structure de la matière.	19
C) Interaction des radiations ionisantes avec la matière.	20
D) Action des radiations sur les bioconstituants cellulaires.	25
I. — 2. <i>Mécanisme d'action biologique des radiations ionisantes.</i>	27
A) Théorie de l'effet direct.	27
B) Théorie de l'effet indirect.	29
C) Validité des deux théories.	30
I. — 3. <i>Effets biologiques des radiations ionisantes.</i> ...	35
A) Radiosensibilité cellulaire.	35
B) Radiosensibilité tissulaire.	39
C) Radiosensibilité de l'organisme entier.	44
I. — 4. <i>Modifications de la radiosensibilité.</i>	49
A) Radiosensibilisation.	49
B) Radioprotection.	51
C) Radiomimétisme.	53

II. — TRAVAIL PERSONNEL.....	59
II. — 1. <i>Protocole général</i>	61
A) Produits utilisés.....	61
B) Animaux d'expérience.....	64
C) Source de rayonnement.....	65
II. — 2. <i>Résultats expérimentaux</i>	67
A) Toxicité générale aiguë.....	67
B) Pathologie générale.....	69
C) Effets hématologiques.....	71
D) Effets histologiques.....	74
E) Modification de la toxicité par la cystéinamine (MEA).....	75
F) Modification de la radiosensibilité par l'EDTA- Fe (II).....	77
II. — 3. <i>Discussion des résultats</i>	79
A) Toxicité générale aiguë.....	79
B) Pathologie générale.....	80
C) Effets hématologiques.....	81
D) Effets histologiques.....	82
E) Modification de la toxicité par la MEA.....	82
F) Modification de la radiosensibilité.....	83
CONCLUSION.....	87
BIBLIOGRAPHIE.....	89

